



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PISA

FACOLTÀ DI AGRARIA

Tesi di laurea specialistica in “Agricoltura biologica e Multifunzionale”

*Curriculum “Agricoltura biologica”*

**STUDI SULLA NUTRIZIONE AZOTATA  
DELLA LATTUGA COLTIVATA IN  
IDROPONICA**

Relatore:

chiar.mo prof. Alberto Pardossi

Candidato:

Mirco Romani

Anno Accademico 2007/2008

---

---

**STUDI SULLA NUTRIZIONE AZOTATA  
DELLA LATTUGA COLTIVATA IN  
IDROPONICA**

---

## INDICE

Introduzione .....	- 1 -
1. Parte generale .....	- 2 -
1.1. Generalità sulla lattuga.....	- 3 -
1.1.1. Coltivazione della lattuga.....	- 6 -
1.1.2. La coltivazione protetta .....	- 11 -
1.1.3. Le tecniche di coltivazione fuori suolo .....	- 19 -
1.1.4. Raccolta della lattuga .....	- 28 -
1.1.5. <i>Post harvest</i> (IV gamma) .....	- 29 -
1.2. Qualità degli ortaggi da foglia.....	- 37 -
1.2.1. Generalità .....	- 38 -
1.2.2. I nitrati ed il consumo degli ortaggi da foglia .....	- 40 -
1.2.3. Composti antiossidanti .....	- 44 -
2. Parte sperimentale .....	- 49 -
2.1. Obbiettivi ed approccio sperimentale.....	- 50 -
2.2. Materiali e metodi .....	- 52 -
2.2.4. Determinazioni .....	- 57 -
2.2.5. Analisi statistica .....	- 60 -
2.3. Risultati e discussione .....	- 61 -
2.3.1. Primo esperimento.....	- 61 -
2.3.2. Secondo esperimento .....	- 70 -
2.4. Conclusioni .....	- 80 -
Bibliografia consultata .....	- 82 -

---

## INTRODUZIONE

Oggigiorno esiste un *trend* a livello mondiale, che consiste in una crescente ricerca da parte dei consumatori di cibi sani, liberi da residui tossici e contemporaneamente prodotti nel rispetto dell'ambiente (*environmentally friendly*). Il consumatore infatti, effettua ormai le sue scelte in maniera più complessa rispetto al passato, cercando contemporaneamente la soddisfazione di numerosi fabbisogni. Non mira solo al soddisfacimento delle percezioni sensoriali e ai propri bisogni nutrizionali, ma combina questi criteri con le proprie attese riguardanti il rispetto dell'ambiente, della biosfera e la percezione della veridicità delle garanzie offerte dai produttori. In questo nuovo contesto gli ortaggi prodotti con tecniche a basso impatto ambientale stanno attirando l'attenzione in maniera crescente.

Una delle sfide principali dell'orticoltura globale del futuro è rispondere a queste esigenze, cercando di farlo anche in paesi meno sviluppati dove rimane da perseguire il raggiungimento di adeguati livelli produttivi. Per queste realtà sistemi *soilless low-cost* potrebbero rappresentare parte della soluzione ai problemi legati alla mancanza di suolo fertile e di acqua. Ristrette aree coltivate potrebbero garantire quantità di cibo notevolmente superiore rispetto alle tecniche tradizionali, anche in regioni con scarse disponibilità idriche o con acque di scarsa qualità (saline).

L'agricoltura moderna deve avere inoltre, come fine da ricercare, la diminuzione dell'impatto sull'ambiente. Le direzioni da seguire sono indubbiamente la riduzione e ottimizzazione dell'uso delle risorse energetiche e l'abbattimento delle esternalità negative, quali ad esempio le emissioni di gas ad effetto serra e la lisciviazione di elementi minerali, responsabili di forti mutamenti ambientali. Questo al fine di recuperare quella sostenibilità, che è fondamentale per garantire un futuro alle generazioni che verranno e che da tempo si è persa nella corsa ai risultati di breve periodo.

## 1. PARTE GENERALE



## 1.1. GENERALITÀ SULLA LATTUGA

La lattuga (*Lactuca sativa* L.) è una specie erbacea originaria delle regioni temperate. Il nome latino del genere (*Lactuca*) sembra derivare dal termine *lactucus* (ricco di latte), a causa del lattice emesso dai suoi tessuti se vengono incisi. Il lattice essiccato è usato, grazie alle sue proprietà, come leggero sonnifero.

Il centro di origine primario della specie sembra essere il Medio Oriente. Le prime testimonianze della sua coltivazione, datate oltre 3000 anni fa, risalgono agli Antichi Egizi. Successivamente gli Antichi Greci e i Romani erano soliti consumare lattughe. Ne parla ad esempio Teofrasto nei suoi scritti intono al 300 a.C., e successivamente Plinio e Columella. Quest'ultimo classifica per la prima volta le lattughe allora coltivate, individuandone 4 gruppi: 'Ceciliana', 'Cappadocia', 'Bianca riccia di Betica' e la 'Lattuga di Cipro'. Bisognerà poi aspettare il XVII secolo per trovare scritti di qualche interesse riguardanti questo ortaggio, quando appaiono pubblicazioni sulla tecnica di coltivazione.

Durante il periodo delle grandi esplorazioni attorno al mondo la lattuga raggiunse i "nuovi continenti". Spesso infatti i naviganti, a partire da Cristoforo Colombo, la portarono con sé e la introdussero nelle nuove terre.

Ad oggi la grande variabilità esistente sia nella morfologia della pianta, sia nella forma, sviluppo e colorazione delle foglie di *L. sativa* è dovuta a mutazioni naturali o all'ibridazione con la *L. serriola* L. Alcuni autori, basandosi su caratteristiche comuni tra le due specie, ritengono addirittura che la *L. sativa* derivi direttamente dalla *L. serriola* (Bianco and Pimpini, 1990).

La *Lactuca sativa* appartiene alla famiglia delle Asteraceae e di essa si conoscono diverse varietà botaniche. Secondo le recenti indicazioni della Comunità Europea (Reg. CE N° 1543/2001 del 27/07/2001) la classificazione sistematica prevede le varietà botaniche di seguito riportate:

- ❖ var. *capitata* (L.) Janchen = lattuga a cappuccio a foglia liscia (*Fig. 1.1a*) (es. Trocadero) e a foglia riccia (*Fig. 1.1b, c*) (es. Brasiliana o Iceberg e Great lakes);

- ❖ var. *crispa* L. = Lattuga da taglio, Lattughino da cogliere, Foglie di quercia, Lollo;
- ❖ var. *longifolia* (Lam.) Janchen = Lattuga romana (Fig. 1.1d), Mini-romana, Romanella, Little gem;
- ❖ var. *angustana* Irish X Bremen. = Lattuga da stelo o Lattuga asparago.



**Fig. 1.1.** Alcune tipologie di lattuga presente sul mercato. a) *L. sativa* var. *capitata* a foglia liscia, b e c) *L. sativa* var. *capitata* a foglia ricca, d) *L. sativa* var. *longifolia*.

*L. sativa* è una pianta erbacea, annuale, con apparato radicale fittonante

superficiale (30-40 cm). Nelle prime fasi di sviluppo ha un habitus vegetativo con foglie disposte a rosetta con un caule molto corto, che nei grumoli commerciabili in genere è di 20 - 60 mm. Successivamente le foglie tendono ad embricarsi nelle lattughe cappuccio, formando un grumolo compatto, mentre tendono ad assumere portamento verticale in quelle da taglio. A fine inverno, quando la pianta passa alla fase riproduttiva, il fusto si allunga rapidamente raggiungendo altezze variabili da 0,7 a 1,5 m e produce numerosi fiori; questa fase di allungamento del fusto è comunemente definita “monta a fiore”. Quando la lattuga è coltivata per produrre foglie e non semi per la riproduzione, la pianta è ovviamente raccolta prima che questo avvenga.

I fiori portati su capolini in numero di 10-25, sono ermafroditi, di colore giallo più o meno acceso. La fecondazione è autogama, tuttavia gli incroci sono abbastanza frequenti. La fioritura è scalare e può durare anche un mese. I frutti sono acheni, comunemente detti “semi”, sono di forma appiattita e provvisti di pappo distale, munito di numerose setole, per facilitare la dispersione anemocora. Il peso di 1.000 semi è variabile tra 0,7 e 1,5 g e la temperatura ottimale di germinazione è di 25 °C (Bianco and Pimpini, 1990).

La lattuga è quasi sempre coltivata come ortaggio da foglia. Nella maggior parte dei paesi è tipicamente mangiata cruda come insalata, o all’interno di svariati piatti. Tuttavia in alcune zone come la Cina, la lattuga è mangiata dopo cottura a vapore.

Numerosi programmi di miglioramento genetico sono stati condotti al fine di ampliare il *pool* genetico disponibile, sfruttando la facilità con cui *L. sativa* si ibrida con diverse specie parenti quali *L. serriola*, *L. saligna* e *L. virosa*.

### 1.1.1. Coltivazione della lattuga

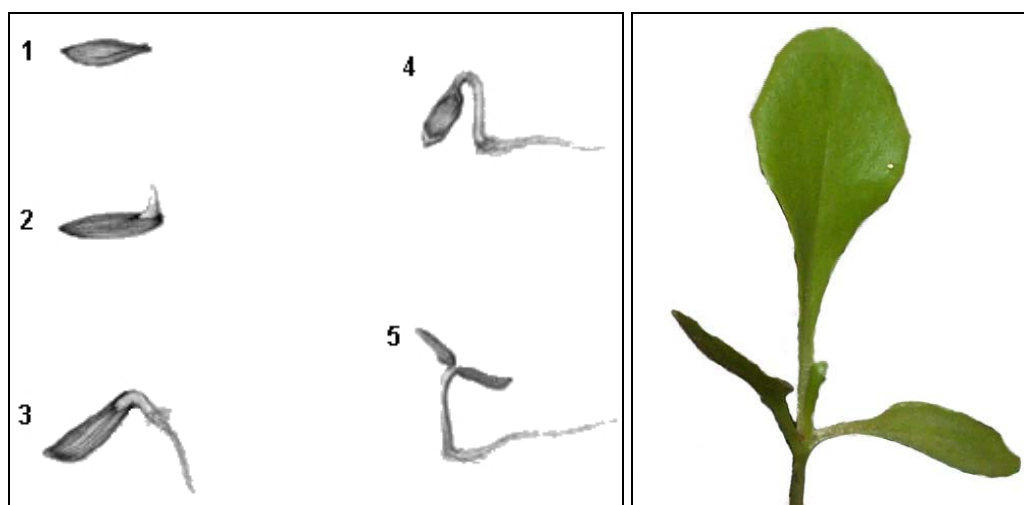
La lattuga necessita di condizioni climatiche miti. La temperatura ottimale di crescita in pieno campo è di 20-24 °C di giorno e 7-11 °C di notte. Periodi prolungati di temperature medie inferiori ai 13 o superiori ai 27 °C, possono provocare nel primo caso forti riduzioni dell'accrescimento, nel secondo produzioni di qualità scadente e induzione a fiore con accrescimento del caule e grumoli non compatti nelle varietà a cappuccio. In genere la lattuga è abbastanza resistente alle basse temperature, anche quando queste raggiungono gli 0 °C, purché le piante non siano in una fase troppo avanzata dello sviluppo.

La durata del ciclo colturale varia da 30 a 150 giorni, in dipendenza della cultivar, delle tecniche colturali adottate e delle condizioni di temperatura, luminosità e fotoperiodo a cui la pianta è sottoposta. Temperature medie o medio-alte (per le cultivar tolleranti) velocizzano l'accrescimento. L'intensità luminosa è importante in quanto in condizioni di carente illuminazione si nota un lento accrescimento e la formazione di foglie più piccole, con una porzione basale più lunga ma stretta

La lattuga è coltivata in tutte le tipologie di terreno, dai sabbiosi agli argillosi, tuttavia quest'ultimi possono essere di difficile gestione, in quanto deve essere garantito un buon drenaggio delle acque in eccesso. I terreni più adatti sono sicuramente quelli sabbioso-limosi con buona dotazione di sostanza organica, un pH tra 6 e 7 e bassa salinità. La salinità a cui la lattuga è abbastanza sensibile (soglia 1,3 dS/m), rappresenta un problema specialmente nelle prime fasi di sviluppo; solo *cultivar* tolleranti riescono a dare produzioni soddisfacenti in queste condizioni.

Nella lattuga è presente il fenomeno della dormienza post-raccolta dei semi. La durata del periodo di dormienza è legato a vari fattori tra cui la *cultivar*, il contenuto di umidità del seme e la temperatura dell'aria. La temperatura ottimale di germinazione (*Fig. 1.2*) è tra 15 e 22 °C; al di sotto di 2 °C non si ha germinazione. Le temperature alte, in alcune cultivar già a partire dai 23 °C si verifica la termo dormienza subito dopo che il seme si è imbibito. Una tecnica

efficace per permettere la germinazione anche a temperature di 30-35 °C è l'*osmoprimering*. Consiste nell'imbibire i semi in soluzioni saline o comunque con alto potenziale osmotico, permettendo il superamento della dormienza ma non la germinazione finché restano in queste soluzioni. Successivamente si può procedere con la normale semina o alla disidratazione e conservazione anche per un mese.

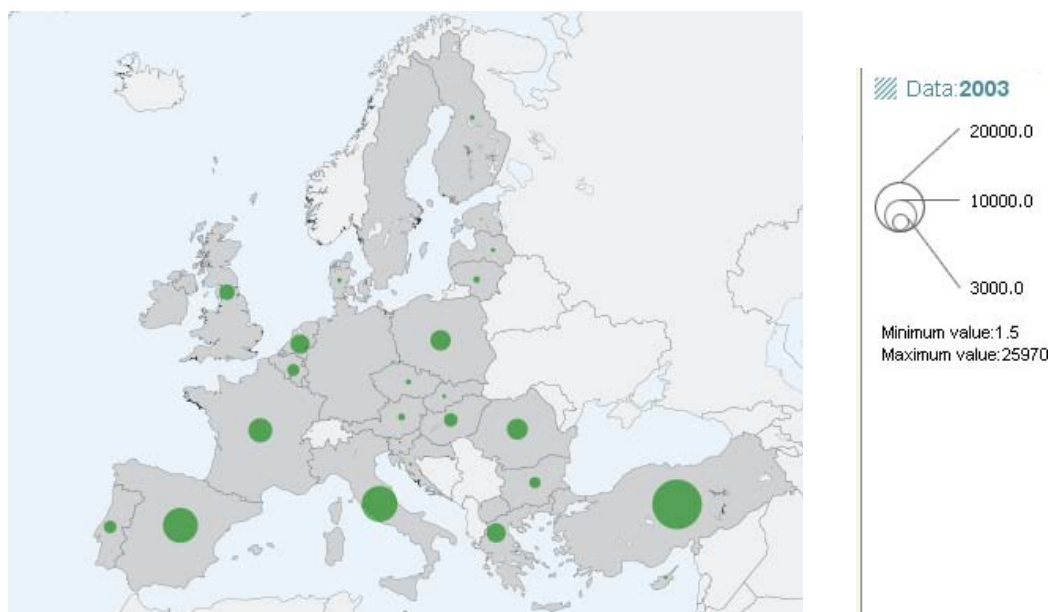


**Fig. 1.2.** A sinistra fasi di germinazione dei semi di lattuga, a destra plantula alla fase di prima foglia vera.

In coltivazione su suolo è opportuno inserirla in appositi avvicendamenti colturali onde evitare l'effetto di patogeni. Ripetendo più volte la coltura della lattuga su se stessa si verificano molto spesso forti aumenti di sclerozi e piante infette da *Sclerotinia minor* Jagger. Può essere eseguita la semina diretta anche se questa dà forti problemi per il controllo delle infestanti (difficili da controllare se si opera con metodi di produzione a basso impatto ambientale); oppure si può ricorrere al trapianto, che permette tra le altre cose di anticipare l'epoca di coltivazione e di evitare il costo del diradamento. È necessaria comunque un'accurata preparazione del terreno specialmente quando si effettua la semina, che di solito è sistemato a porche per migliorare l'allontanamento delle acque in eccesso (Bianco and Pimpini, 1990).

### Diffusione e importanza economica

Nel mondo la lattuga e la cicoria, rilevate come dato unico dalla FAO, sono coltivate su una superficie di poco superiore ad un milione di ettari. La Cina è indiscutibilmente il maggior produttore mondiale per superfici e quantità prodotte, e peraltro sta ancora incrementando, anche se con ritmi più bassi rispetto agli anni passati, le superfici coltivate e le rese unitarie. Con le sue coltivazioni la Cina copre circa la metà della superficie e della produzione mondiale. Seguono poi ben distanziati gli USA, che registrano però rese di oltre 30 t/ha, nettamente superiori alla media mondiale, e i Paesi Europei, considerati nel loro insieme come Unione Europea. Come si può notare dalla *Fig. 1.3*, che mostra le produzioni di ortaggi nel 2003 nell'Unione Europea a 27 (e dei paesi non aderenti che hanno richiesto l'adesione), il maggiore produttore è stato la Turchia seguito ad una certa distanza da Italia e Spagna. Questi dati indicano quindi una prevalenza delle produzioni ortive nei paesi che si affacciano sul Mediterraneo e sono in linea con quelli presentati nella tabella successiva.



**Fig. 1.3.** Distribuzione delle produzioni di ortaggi nella Comunità Europea a 27 membri, anno 2003 (x 1.000 t). (Fonte EUROSTAT).

In *Tab. 1.1* infatti sono riportate in dettaglio le superfici raccolte, le quantità

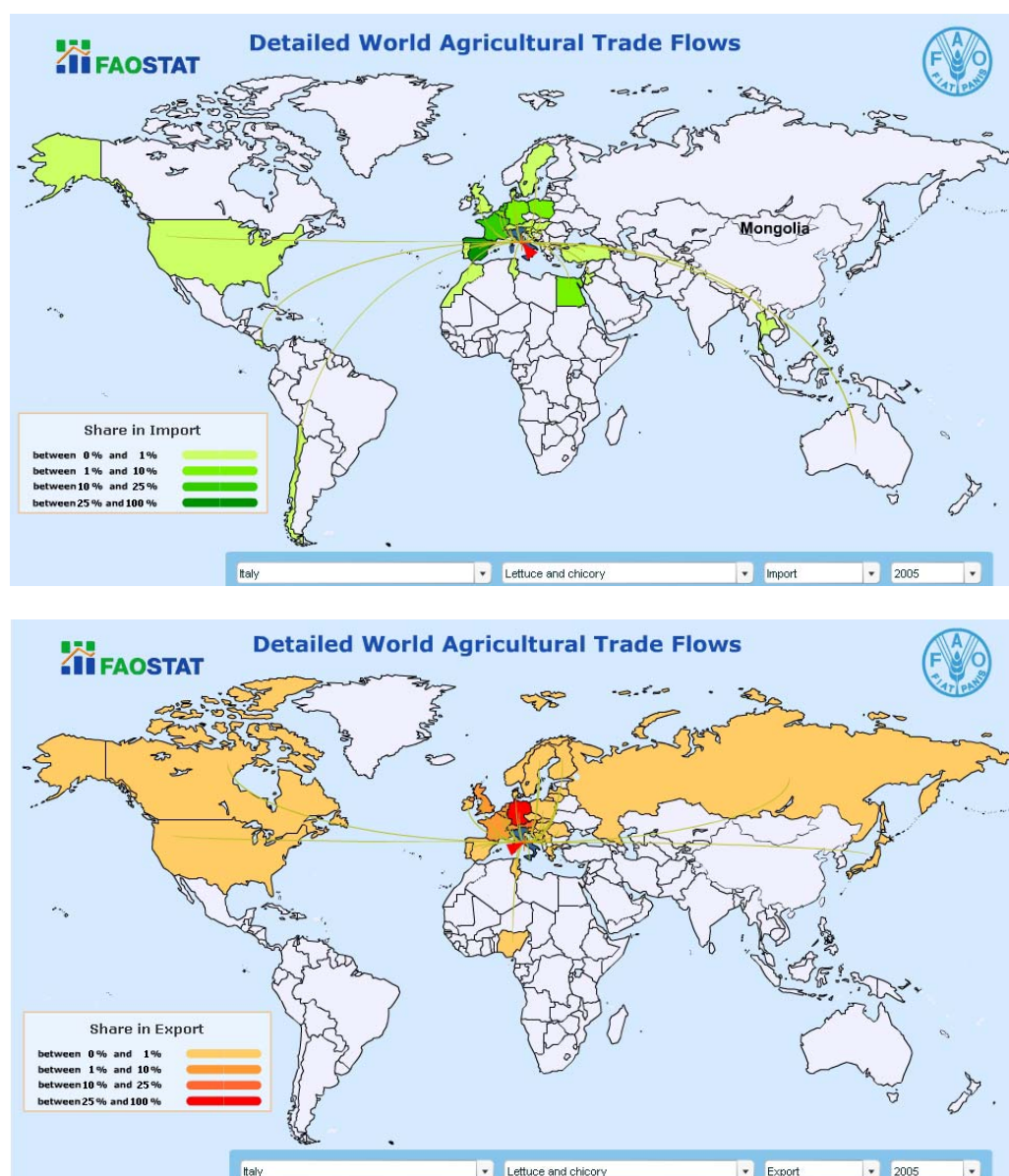
prodotte e le rese di lattuga e cicoria negli ultimi anni in Italia, Unione Europea e nel mondo. Qui è possibile notare come nel nostro Paese sia concentrata circa un terzo della produzione e della superficie europea di questa coltura.

**Tab. 1.1.** Superfici raccolte, rese e quantità prodotte di lattuga e cicoria negli ultimi anni in Italia, Unione europea a 25 paesi e nel mondo. (Fonte FAOSTAT).

Italia				
		2005	2006	2007
Superficie raccolta	ha	50.010	49.728	44.272
Resa	t/ha	20,2	19,4	19,2
Quantità prodotta	t	1.010.470	964.757	850.078
Unione Europea 25				
		2005	2006	2007
Superficie raccolta	ha	148.444	151.151	135.638
Resa	t/ha	23,4	23,4	23,1
Quantità prodotta	t	3.467.235	3.531.689	3.139.635
Mondo				
		2005	2006	2007
Superficie raccolta	ha	101.4987	1.049.047	1.065.955
Resa	t/ha	22,0	21,7	22,1
Quantità prodotta	t	22.292.862	22.771.157	23.550.943

Per quanto riguarda gli scambi commerciali di questo prodotto da parte dell'Italia, dati FAOSTAT del 2005 indicano come nostro principale fornitore (tra il 25 e il 100% del prodotto importato) la Spagna, seguita da Olanda e Francia. Le produzioni nazionali esportate, sono invece dirette in larga prevalenza in Germania e a seguire in Gran Bretagna, Francia, Olanda, Austria, Belgio e Svizzera (*Fig. 1.4*).





**Fig. 1.4.** Flussi commerciali dell'Italia di lattuga e cicoria. In alto l'import, in basso l'export, anno 2005. (Fonte FAOSTAT).



### 1.1.2. La coltivazione protetta

Le colture protette hanno radici molto lontane nella storia. Alcune testimonianze rinvenute fanno risalire al tempo degli Antichi Romani i primi tentativi di coltivazione in ambiente protetto. Già Plinio il Vecchio nei suoi scritti racconta che l'imperatore Tiberio era solito mangiare un frutto simile al cetriolo e che i suoi giardinieri per riuscire a garantire un approvvigionamento ininterrotto nel corso dell'intero anno avevano studiato i primi sistemi di protezione. Tuttavia, si dovrà aspettare ancora diversi secoli per trovare apprestamenti che siano a noi più familiari. Le prime semplici strutture definibili "serre", risalgono infatti al XIII sec, costruite in Italia per ospitare le piante portate da vari esploratori e provenienti prevalentemente da regioni esotiche. Nel XVI sec in Inghilterra si trovano le prime testimonianze della realizzazione di orangerie, particolari serre che come suggerito dal nome erano usate per allevare piante di agrumi; nel secolo successivo divennero di gran moda ovunque in Europa. Queste strutture erano realizzate con ampie finestre in vetro sul lato a Sud per permette l'ingresso della luce; durante l'inverno piccole stufe erano usate per riscaldare l'ambiente interno. Allo stesso periodo fanno riferimento i primi esperimenti miranti alla conservazione dell'energia, all'apporto di nutrienti, di calore e addirittura di anidride carbonica (Lopez-Hernandez and Pérez-Parra, 2006). A partire dal XVII sec., grazie al miglioramento dei materiali e delle tecniche costruttive furono realizzate serre con strutture di notevoli dimensioni, quali ad esempio quelle presenti all'interno dei Royal Botanical Gardens di Kew (*Fig. 1.5*).

Nonostante i notevoli sviluppi avuti fin qui, il vero momento di discontinuità si ebbe però con il XX sec quando si fecero enormi passi avanti sulle tecniche e conoscenze riguardanti i sistemi di riscaldamento, irrigazione, fertilizzazione in serra e le materie plastiche fecero il loro ingresso massiccio anche in questo settore, cambiandolo radicalmente.



**Fig. 1.5.** La sera delle Palme ai Royal Botanical Gardens di Kew, esempio di serra del XVII sec. in ferro e vetro.

Le ragioni principali che in passato come in epoca moderna hanno spinto orticoltori e floricoltori alla produzione in ambiente protetto risiedono nei vantaggi che questa modalità garantisce. Le colture protette infatti permettono di spostare le produzioni nel tempo e nello spazio e quindi di produrre anticipatamente o completamente fuori stagione o in zone geografiche completamente diverse da quelle di origine rispetto ad una coltura non protetta. Queste tecniche sono classicamente definite come semi-forzatura e forzatura. Inoltre le protezioni garantiscono riparo parziale o totale dai danni arrecati da fenomeni meteorici non desiderati quali il vento, la grandine e le piogge eccessive o violente.

Innanzitutto è opportuno classificare le strutture atte alla protezione in due gruppi le coperture e le serre. Le coperture sono principalmente rappresentate dai piccoli tunnel. Questi apprestamenti presentano spesso strutture di sostegno in plastica e sono destinate ad accogliere la coltura solo per periodi abbastanza brevi di tempo, di solito solo per una fase dello sviluppo. Al loro interno infatti le condizioni di temperatura e umidità raggiungono facilmente livelli eccessivi; tranne in quei rari casi in cui sono previste aperture della copertura per favorire l'eventuale arieggiamento, quando necessario.

Le “serre”, secondo una definizione classica, sono quelle costruzioni di legno,

ferro o altro materiale con copertura in vetro (individuate all'estero col nome di *Glasshouse*) dove è possibile coltivare varie tipologie di piante quando le condizioni ambientali esterne non lo permettono. Dopo la II Guerra Mondiale con la diffusione delle materie plastiche è cominciata la costruzione anche di serre con questo tipo di coperture. Le coperture con materiale plastico hanno riscosso fin dalla loro introduzione sul mercato un grande successo poiché sono risultate notevolmente più economiche rispetto al vetro e più facile l'esecuzione dei lavori di messa in opera, tanto che spesso possono essere costruite dall'agricoltore stesso (Alpi and Tognoni, 1990). Risulta quindi necessario rivedere alla luce di queste considerazioni la definizione classica di "serra".

In dipendenza di condizioni climatiche differenti e disponibilità di risorse altrettanto diverse non ci sono serre con una struttura ed un design universalmente diffuse; ma queste sono spesso adattate alle esigenze e disponibilità locali. Così aree con condizioni climatiche anche molto simili presentano di frequente strutture molto differenti tra loro.

Le serre più semplici sono i tunnel. Questi nonostante la loro notevole variabilità di forme e dimensioni sono costruiti essenzialmente sempre dagli stessi materiali ossia da ferro o legno per le strutture di sostegno e da film plastici per la copertura. Queste strutture sono sempre semplici dal punto di vista costruttivo e nella quasi totalità dei casi sono passive nel senso che non prevedono un controllo dei parametri climatici interni. Una delle tipologie maggiormente diffuse in ambiente mediterraneo è quella dei tunnel con struttura ad arco metallico e copertura con film plastico (*Fig. 1.6*). In genere i tunnel sono strutture all'interno delle quali è possibile il passaggio degli operatori e spesso anche dei mezzi meccanici e sono dotati di semplici aperture sui lati ottenute tramite arrotolamento del film di copertura o tramite soluzioni più complesse. Questo permette almeno parzialmente di evitare temperature e livelli di umidità eccessivi. I vantaggi maggiori di questa tipologia di strutture è sicuramente la loro semplicità ed economicità che le rende adatte specialmente a colture di basso reddito e in quelle situazioni dove non si disponga di grandi capitali iniziali da poter investire. Altra peculiarità è sicuramente la possibilità

di smontare la struttura e muoverla su un altro appezzamento di terreno, caratteristica che in alcuni casi può rappresentare un vantaggio.



**Fig. 1.6.** Coltivazione di insalata in tunnel di medio-grandi dimensioni con struttura di sostegno metallica e copertura in film plastico.



**Fig. 1.7.** Serra moderna con copertura in vetro o lastre di materiale plastico.

Le serre vere e proprie sono invece costruzioni fisse dotate di una componente strutturale più importante rispetto ai tunnel (*Fig. 1.7*). Non è possibile descrivere una serra tipo in quanto ne esistono numerosissime varianti; si passa infatti da semplici costruzioni realizzate con materiali e tecniche locali a notevolmente complesse di tipo industriale, altamente meccanizzate con numerosi sistemi al loro interno. Classificare le serre diventa perciò un'operazione complessa in quanto le variabili in gioco sono molte, ma tra

queste, quelle che risultano più importanti sono essenzialmente tre, ossia: le caratteristiche della costruzione, il materiale di copertura e i materiali della struttura portante. I materiali più usati per le parti strutturali sono il legno, l'acciaio e l'alluminio che si è andato sempre più diffondendo negli ultimi tempi. Il tipo di materiale usato per realizzare la struttura determina ovviamente la geometria e l'altezza massima, dal momento che l'uso di materiali differenti, porta ad una diversa capacità di resistere ai carichi. Le serre più alte (con altezze superiori ai 5 m) in grado di resistere quindi ai grandi carichi determinati principalmente dal vento, sono state sviluppate grazie all'impiego di materiali più resistenti. Per quanto riguarda i materiali di copertura, il vetro tradizionalmente usato fin dalla realizzazione delle prime serre, riveste ancora oggi un'importanza non trascurabile. Oltre alle tipologie classiche negli ultimi decenni sono apparse sul mercato diverse varianti. Interessanti risultano ad esempio i vetri a doppia parete, nella cui intercapedine viene inserita anidride carbonica o aria secca e che presentano ottime prestazioni ai fini dell'isolamento termico. Altrettanto interessanti appaiono i vetri in grado di schermare la radiazione dell'IR lontano grazie ad un sottile strato di ossidi metallici depositi sulla faccia esterna grazie ai quali è esaltato l'effetto serra.

Tra le materie plastiche quelle flessibili (film plastici) hanno permesso la realizzazione di serre circolari con una migliore *performance* per quanto concerne la trasmissione della radiazione incidente. Tra questi i tre materiali più ricorrenti sono il polietilene (PE), il cloruro di polivinile (PVC) e l'etilenvinilacetato (EVA). Vengono estrusi in film sottili dello spessore variabile da 0,05 a 0,20 mm e possono essere incolori o colorati (fotoselettivi). Ciascuno di questi composti presenta caratteristiche diverse. Il PVC ad esempio ha ottime caratteristiche di resa termica tuttavia non si è mai diffuso largamente in Europa a seguito di alcuni suoi difetti. L'EVA presenta caratteristiche variabili a seconda del contenuto percentuale di acetato di vinile che aumenta l'impermeabilità alla radiazione IR lontana, la trasparenza al visibile, la resistenza a rottura e perforazione, ma provoca anche elasticità e sensibilità alla dilatazione. A seconda delle caratteristiche desiderate esistono quindi miscele

differenti. Il PE infine ha in generale caratteristiche termiche non eccezionali ma garantisce ottima resistenza meccanica e durata, per questo risulta il più diffuso nei nostri areali anche perché meno costoso. Le materie plastiche per la produzione di lastre rigide sono altrettanto importanti e diversificate. Le più diffuse sono sicuramente il poliestere (UP), il polimetacrilato di metile (PMMA) e il policarbonato (PC). Le lastre di poliestere presentano scarsa trasparenza nel visibile tuttavia i molti aspetti positivi tra cui l'elevata resistenza meccanica, la notevole elasticità e leggerezza e una bassa conducibilità termica hanno reso questo materiale il più utilizzato e conosciuto da anni. Il polimetacrilato ha molte caratteristiche che lo renderebbero un ottimo materiale di copertura, infatti è dotato di elevata trasmittanza alla radiazione solare (addirittura superiore al vetro), ridottissima conducibilità termica, forte resistenza agli agenti atmosferici e leggerezza, ma presenta purtroppo anche scarsa durezza ed elevata suscettibilità alla dilatazione che ne ridimensionano notevolmente il suo valore (Favilli et al., 1987).

Le serre vere e proprie possono essere dotate di svariati sistemi tra i quali quelli per il controllo climatico, per l'irrigazione, la fertilizzazione, i trattamenti fitosanitari, l'arricchimento della CO<sub>2</sub>, la cui complessità come ricordato in precedenza è ovviamente variabile in dipendenza delle esigenze della coltura e delle disponibilità finanziarie. I sistemi interni per il controllo climatico possono essere svariati, comprendendo quelli atti a regolare la temperatura, l'umidità e la radiazione incidente sulla coltura. Tra questi quello che sicuramente riveste l'importanza maggiore ed è più di frequente presente è il sistema di climatizzazione. Esistono sistemi complessi che garantiscono un controllo costante del regime termico e impianti più semplici, cosiddetti "di soccorso" (talvolta presenti anche nei tunnel), che intervengono invece solo in caso di bisogno evitando blocchi della crescita o addirittura solo alla soglia del danno alla coltura. Per aumentare la temperatura dell'ambiente interno alla serra è possibile utilizzare varie fonti energetiche quali quelle geotermiche (ove disponibili), eventuali reflui industriali, l'energia solare, o più comunemente i combustibili. Differenti fonti energetiche ovviamente implicano anche forti

differenze, negli impianti presenti all'interno della serra, per la distribuzione del calore. Per la riduzione delle temperature invece la tecnica maggiormente diffusa è quella della ventilazione, attraverso un apposito sistema di finestre posizionate sul tetto e/o sulle pareti laterali. La ventilazione permette contemporaneamente alla riduzione degli eccessi di temperatura, l'abbassamento dell'umidità dell'aria e il riequilibrio della concentrazione di CO<sub>2</sub>, che talvolta all'interno raggiunge livelli troppo bassi per una buona attività fotosintetica della coltura (se non è presente un sistema di arricchimento). Anche le finestre per la ventilazione possono presentare livelli di complessità variabili passando da semplici finestre 'fatte a mano' con apertura manuale, ad estremamente complesse nelle serre industriali. Qui sono spesso presenti sistemi automatici di apertura controllati da sistemi di controllo climatico che regolano numerosi parametri: temperatura, umidità, ventosità, etc. (Lopez-Hernandez and Pérez-Parra, 2006). Un altro sistema per il controllo del clima molto diffuso è quello per l'ombreggiamento che consente di ridurre l'irraggiamento solare all'interno della serra quando la radiazione solare risulta eccessiva; la tecnica può essere attuata con schermi esterni o interni. I primi sono i più efficaci ma più complessi nel montaggio; vengono per questo motivo preferiti i secondi. Anche questo sistema può essere completamente manuale o più o meno automatizzato. Un altro sistema presente nelle serre industriali adatte in particolare a determinate specie floricole, ma anche orticole nel Nord Europa è quello dell'illuminazione artificiale, che interviene al contrario dell'ombreggiamento in caso di scarsa illuminazione o al fine di soddisfare determinati fabbisogni fotoperiodici. Esistono due *trend* generali di sviluppo nella realizzazione delle serre. Il primo punta verso serre semplici, con bassi consumi energetici, dove si preferisce che la coltura si adatti all'ambiente esistente. Il secondo *trend* è indirizzato invece alla costruzione di serre sofisticate, con un alto grado di meccanizzazione e robotizzazione, dove le condizioni climatiche sono invece adattate ai fabbisogni della coltura; queste sono le serre che troviamo più di frequente nel Nord Europa.

### **Situazione mondiale**

Analizzando il panorama mondiale delle colture protette appare come le aree dove queste sono maggiormente presenti risultano essere il Bacino del Mediterraneo e l'Estremo Oriente in particolare Cina e Giappone. Attorno al Mediterraneo le aree dove troviamo le maggiori superfici coperte a serre sono sicuramente la regione di Almeria in Spagna con i suoi 27.000 ettari nel 2005, e l'Italia. Nel nostro Paese dove primeggiano sicuramente la Liguria e la Sicilia, secondo i dati Istat (2000) le colture protette coprono complessivamente quasi 28.000 ettari, mentre le serre poco più di 21.800 ettari. In Spagna la tipologia di serra più diffusa è sicuramente la Trellis, con una struttura metallica o di legno, pareti verticali, tetto piatto con limitata pendenza (8-12°) e una copertura con film plastici. In Sicilia invece è diffusa la tipologia a cappella semplice, con la particolarità della copertura, che presenta due strati di film plastico uno fissato all'interno e uno all'esterno della struttura per formare una sorta di camera d'aria e garantire minori perdite di calore durante la notte. In paesi quali Francia, Tunisia e Marocco sono invece molto diffuse serre più semplici con elementi strutturali ad arco (tunnel) e copertura in film plastico. Altre interessanti aree di diffusione della serricoltura sono sicuramente Israele che nonostante non presenti grandi superfici, ha livelli di sviluppo non trascurabili e la Turchia dove il settore presenta una crescita superiore a qualsiasi altro paese dell'area mediterranea. Caso a parte è la Cina che in Estremo Oriente si è affiancata al Giappone e lo ha sopravanzato di gran lunga diventando il paese con le maggiori superfici a colture protette in generale e di serre, a livello mondiale. In molti casi si tratta ancora di apprestamenti molto semplici ma il progresso e la modernizzazione che si registrano in quest'area è sicuramente impressionante (Jouët, 2004). Un realtà a se stente è l'Olanda, nella quale si ha una grande prevalenza di serre in ferro vetro, con un elevato livello di sviluppo tecnologico, eccezione rispetto alla diffusione a livello mondiale di serre con copertura in plastica.



### 1.1.3. Le tecniche di coltivazione fuori suolo

Contrariamente a quanto normalmente si pensi, le prime esperienze di coltivazione fuori suolo (*soilless*) hanno radici molto lontane nel tempo. Già gli Egiziani quasi 4000 anni fa facevano questo. Il primo caso documentato di coltura in contenitore è quello che è possibile apprezzare in numerose pitture trovate nel tempio di Deir el Bahari (*Fig. 1.8*). Si usava questo sistema per trasportare piante dai paesi nativi al palazzo del faraone e per coltivarle quando il suolo locale non era adatto. Non si sa con precisione quale materiale era usato per riempire questi contenitori, ma visto che questi erano trasportati per lunghe distanze, è possibile che il materiale fosse più leggero del suolo puro (Raviv and Lieth, 2008).



**Fig. 1.8.** Pitture ritrovate nel tempio di Deir el Bahari.

Successivamente è possibile trovare altre esperienze di coltivazione fuori suolo condotte dai Babilonesi, nei famosi Giardini Pensili di Babilonia e dagli Aztechi in Messico e dai Cinesi con le loro zattere galleggianti (Raviv and Lieth, 2008; Malorgio, 2004; Tognoni et al., 2005).

A partire dal XVII secolo, piante erano mosse attorno al mondo all'interno di contenitori, specialmente dall'Estremo e Medio Oriente in Europa per essere cresciute in orangerie a fini estetici e per produrre frutti e ortaggi. Questo può

essere quindi considerato come il primo caso documentato di sistema di coltivazione in vaso in serra.

I primi tentativi documentati di far crescere piante in acqua furono quelli di Boyle (1666) e dell'inglese John Wooward, nel 1699. Molto importante fu la scoperta di Justus von Liebig, che i sali minerali sono indispensabili nella nutrizione della pianta; furono tuttavia due scienziati tedeschi, Sachs e Knop che con le loro ricerche nel 1860 e 1861, i veri fondatori dell'idroponica. Essi dimostrarono con i loro studi che lo sviluppo normale di una pianta poteva essere conseguito aggiungendo all'acqua alcuni elementi minerali e in particolare azoto, fosforo, potassio, zolfo, calcio e magnesio. Negli anni seguenti diversi ricercatori, Tollens nel 1882, Shive nel 1915, Hoagland nel 1919, Arnon nel 1938, misero a punto nuove soluzioni nutritive, alcune di queste ancora oggi in uso (Malorgio, 2004).

A rendere possibile e interessante la coltivazione delle piante in vaso furono due progressi molto importanti. Il primo fu la comprensione dei fabbisogni nutrizionali delle piante, il secondo fu la scoperta che era possibile realizzare un'adeguata disinfezione dei substrati o delle soluzioni per eliminare gli organismi patogeni, cosa che era quasi impossibile sul suolo.

La coltivazione di piante senza suolo e senza uso di substrati, con coltivazione diretta in acqua, è indicata con il termine "idroponica" (dal greco *hydros*, acqua, e *ponos*, lavoro), introdotto da Gericke, fisiologo della California Agricultural Experimental Station, nel 1937. Negli anni '30 Gericke era riuscito a mettere a punto il primo vero sistema produttivo idroponico, che fu poi utilizzato dall'esercito americano durante la II Guerra Mondiale. L'esercito USA creò diversi apprestamenti nelle isole del Pacifico occidentale per rifornire di ortaggi freschi le truppe operanti in quell'area (Benton Jones, 2008).

Nonostante strettamente parlando idroponica indichi la coltivazione di piante nella sola soluzione nutritiva (es. *NFT*, *Floating System*, *Aeroponica*) è possibile allargare il concetto a quei sistemi basati su substrati, nei quali questi non forniscono nutrienti e non sono dotati di capacità di assorbimento o scambio ionico.

Inizialmente l'idroponica era usata solo dai ricercatori come strumento essenziale per lo studio di particolari aspetti legati alla nutrizione vegetale e alla funzione delle radici. Fino agli anni '70 non si era riusciti a dimostrare la superiorità di sistemi senza suolo nonostante se ne fossero intuite le potenzialità. Tuttavia i progressi negli ultimi decenni nell'industria plastica, nella produzione di adeguati fertilizzanti, nell'automazione e lo sviluppo di numerosi substrati permisero enormi progressi in campo scientifico e portarono la coltivazione fuori suolo a livello commerciale. Dalla messa a punto commerciale dei primi sistemi di coltivazione fuori suolo questo metodo di produzione si è evoluto molto rapidamente, guadagnando popolarità tra i produttori a livello mondiale.

Le principali ragioni che spingono verso il passaggio dall'uso del suolo a sistemi *soillless*, principalmente in serre intensamente coltivate, risiedono nella possibilità di controllare la proliferazione dei patogeni del suolo. Il suolo è così sostituito con vari substrati quali lana di roccia, poliuretano, perlite, etc., privi di patogeni in quanto derivati da processo di produzione industriale che ne garantisce la sicurezza. Inoltre questi materiali possono in molti casi essere riutilizzati con appositi trattamenti di disinfezione tra una coltivazione e l'altra così da uccidere qualsiasi microrganismo. I sistemi *soillless* inoltre possono garantire un miglior controllo di fattori chiave in grado di incrementare notevolmente le *performance* delle piante coltivate.

Varie sono le ragioni che spingono ad una continua crescita delle coltivazioni fuori suolo. Alcune di queste sono legate alle caratteristiche chimico-fisiche dei substrati che enfatizzano la loro superiorità rispetto al suolo, rendendo più facile il controllo dell'acqua, e la disponibilità di ossigeno e nutrienti.

Tuttavia coltivare fuori suolo implica anche difficoltà e limitazioni che devono essere tenute sotto controllo dal coltivatore, che deve perciò essere adeguatamente preparato per evitare di perdere i potenziali benefici offerti da queste tecniche.

Le colture fuori suolo possono essere suddivise in colture su substrato (artificiale, organico o mix dei due) e senza substrato. Inoltre è possibile

classificare questi sistemi in ciclo chiuso o ciclo aperto.

Nei sistemi con substrato la soluzione drenata dal substrato è necessaria al fine di evitare la salinizzazione e rappresenta in genere il 25-30% del totale. Nei sistemi a ciclo aperto questa soluzione drenata o quella fluita a contatto con gli apparati radicali delle piante (nei sistemi senza substrato) viene sversata nell'ambiente, con forte impatto sull'ambiente a causa del runoff dei nutrienti.

Nei sistemi a ciclo chiuso invece la frazione drenata viene opportunamente raccolta e rimessa in circolo previo aggiustamento del valore di pH e della concentrazione di nutrienti. Quando la concentrazione di ioni (conducibilità elettrica) nell'acqua di irrigazione è inferiore alla concentrazione di assorbimento, è possibile utilizzare completamente la soluzione drenata.

### **Sistemi *soilless* su substrato**

Le prime moderne colture su substrato o anche definita coltura in contenitore erano realizzate all'interno di bancali in cemento riempiti con sabbia o ghiaia *gravel culture*. Successivamente si sostituì questi materiali con l'uso della torba, si cominciarono a usare canalette o vasi in plastica per poi passare all'uso di sacchi riempiti di perlite o lastre di lana di roccia che riducevano enormemente i costi di impianto. In questi sistemi si applica irrigazioni a goccia o si adotta la tecnica del flusso e riflusso nel caso di coltivazione in vaso, diffuso per le piante ornamentali (Tognoni, 2005). La tecnica del flusso e riflusso anche chiamata *Ebb and Flow* o *Ebb and Flood*, prevede che i vasi posizionati in canalette, bancali o apposite platee impermeabili, siano sommersi dalla soluzione nutritiva in maniera intermittente, ogni 1-4 giorni a seconda dell'attività traspiratoria e della capacità idrica del vaso (Malorgio, 2004). Durante l'irrigazione l'acqua fluisce all'interno delle canalette o sul pavimento in modo che la base di ogni vaso sia sommersa (1-4 cm). La durata delle somministrazioni di acqua, in genere 10-30 minuti, dipende dalla conduttività idraulica del substrato utilizzato. La soluzione nutritiva infatti penetra nel vaso per risalita capillare creando un flusso unidirezionale dal basso verso l'alto, che ostacola la diffusione di parassiti. Trascorso l'intervallo di tempo necessario a bagnare in maniera adeguata il substrato all'interno dei vasi, il pavimento o le

canalette sono drenate sfruttando leggere pendenze (Malorgio, 2004; Tognoni et al., 2005).

### **Sistemi *soilless* senza substrato**

Tra le colture senza substrato le tecniche maggiormente conosciute e diffuse sono l'*NFT*, *deep water culture*, *floating system* e aeroponica. La tecnica del *nutrient film technique (NFT)* consiste nella coltivazione di piante mantenendo una pellicola di soluzione nutritiva attorno alle radici. Quando questo sistema fu messo a punto da Cooper nel 1972, sembrava un sistema di coltivazione ideale in quanto permetteva di evitare le spese relative al substrato. Tuttavia nonostante in teoria, la maggior parte delle colture potrebbe essere coltivata in *NFT*, a seguito delle difficoltà incontrate nella messa a punto del sistema, oggi è utilizzato solo per poche colture. I problemi maggiori sono legati alla mancanza da parte del sistema della capacità di *buffer*, non è dunque in grado di superare senza problemi neppure la minima interruzione nella fornitura di acqua e nutrienti e c'è un rischio notevole di diffusione di malattie dell'apparato radicale. Il sistema prevede l'uso di canalette, di materiale plastico (PE, PVC, etc.) o materiale metallico, con una pendenza di 0,3-2,5%, all'interno delle quali si trova l'apparato radicale delle piante (Tognoni et al., 2005; Malorgio, 2004). La larghezza delle canalette è variabile da 4 a 15 cm a seconda della coltura e la lunghezza varia in genere da 1 a 20 m. La soluzione nutritiva è applicata dalla parte più alta della canalette, continuamente nella quantità necessaria a mantenere le radici umide, e scorre verso la parte inferiore. Il quantitativo di soluzione applicata è il minore possibile di modo che il velo liquido sia simile ad una pellicola. Flussi di 3-8 l/m<sup>2</sup>h<sup>-1</sup> sono sufficienti per colture quali lattuga e crisantemo. Altri necessitano un flusso maggiore per evitare problemi di carenze nutrizionali, che possono occorrere alle ultime piante della fila, le quali ricevono una soluzione impoverita dalla piante che le precedono. Inoltre si riscontrano differenze nel fabbisogno di soluzione nutritiva tra colture giovani rispetto a colture in pieno sviluppo (Tognoni et al., 2005).

Il sistema *deep flow technique (DFT)*, è un metodo che come l'*NFT* prevede

che le radici della coltura siano continuamente esposte alla soluzione nutritiva in movimento. Differisce dall'*NFT* dove l'acqua ha uno spessore più sottile possibile, in quanto la soluzione nutritiva che scorre ha una profondità di 5-15 cm. È quindi presente un grande effetto *buffer* termico e nutrizionale da parte della soluzione nutritiva che rende facile la gestione del sistema. Le piante sono sistemate all'interno di fori realizzati su pannelli di polistirene, posizionati su apposite canalette dove fluisce la soluzione nutritiva (Raviv and Lieth, 2008).

Il metodo *deep water culture* ideato da Gericke nel 1930, è stata la prima tecnica idroponica a diffusione commerciale. Il sistema prevedeva l'uso di vasche contenenti la soluzione nutritiva. Nelle prime applicazioni le piante erano trapiantate su un sottile strato di sabbia, posta su una tela sostenuta da una rete a maglie fitte al di sopra delle vasche. Questo sistema aveva problemi legati alla scarsa ossigenazione della soluzione che era spesso causa di fenomeni di ipossia. Grazie all'introduzione di un'aerazione forzata o di un sistema di ricircolo della soluzione (*Deep Recirculating Culture*), si è riusciti a superare sostanzialmente questi problemi (Tognoni et al., 2005).

Evoluzione del sistema *deep water culture* è stato il *floating system* grazie alla diffusione del polistirolo e di altri materiali plastici a basso peso specifico. Questo metodo di coltivazione fu utilizzato per la prima volta nel 1976 dal Prof. Massantini (Università degli studi di Pisa). Su pannelli di polistirolo fessurati ad alta densità, riempiti con substrato (perlite o vermiculite) vengono posti i semi a germinare. Appena le piantine hanno raggiunto un livello di sviluppo adeguato i pannelli sono posti a galleggiare sulla soluzione nutritiva. Questa è contenuta in vasche della profondità di 20-30 cm di complessità varia, possono essere comunque realizzate in maniera molto economica, con un telo plastico e dei supporti ai lati per tenerlo rialzato (Tognoni et al., 2005; Malorgio, 2004).

L'aeroponica è un sistema di coltivazione nel quale le radici delle piante sono sospese in un volume dove è spruzzata continuamente la soluzione nutritiva. La struttura che sostiene le piante è di materiale plastico e di forma triangolare. All'interno l'umidità relativa è del 100% e un alta disponibilità di ossigeno per le radici, rendendo praticamente nulli i problemi di ipossia. Tuttavia gli elevati

costi di impianto e l'inesistente *buffer* idrico limita fortemente la diffusione di questa tecnica (Raviv and Lieth, 2008; Tognoni et al., 2005).

### **Vantaggi e svantaggi dei sistemi *soiless***

Uno delle maggiori differenze tra le colture su suolo e quelle *soiless* è il confinamento delle radici in specifici volumi ben definiti. Il volume mediamente disponibile per una pianta cresciuta a terra è enormemente maggiore di quello disponibile per una cresciuta fuori suolo e parallelamente il volume di acqua disponibile e di nutrienti nella zona radicale. Perciò nelle colture *soiless* su substrato come torba o lana di roccia le irrigazioni devono essere molto più frequenti rispetto a coltivazione su suolo, al fine di fornire acqua e nutrienti in quantità sufficiente. In sistemi senza substrato come l'*NFT*, dove il volume di acqua nella zona radicale è ulteriormente molto inferiore, la soluzione nutritiva deve circolare costantemente per evitare deficit.

La crescita radicale è un fenomeno necessario per assicurare un efficiente assorbimento di acqua ed elementi nutritivi. Nel suolo le radici crescono maggiormente quando si abbassa la disponibilità di acqua e nutrienti, specialmente di quegli elementi con bassa mobilità come P, Mn e Zn. Di conseguenza in coltivazioni fuori suolo dove è difficile si verifichino deficit di questo tipo diminuisce il bisogno delle piante di un' 'alimentazione attiva'. Tuttavia siccome la crescita radicale è un processo persistente, il sistema radicale di piante cresciute in volumi ben definiti è normalmente molto denso. Se il sistema *soiless* è condotto in maniera adeguata evitando carenze idriche e nutrizionali, il ridotto volume radicale non ha influenza sul rapporto radici/germogli. Perciò con volumi di substrato inferiori per soddisfare i fabbisogni idrici e nutrizionali di una porzione aerea maggiore, la densità delle radici deve essere maggiore. Questo porta a competizione per i nutrienti, ed a frequenti problemi di competizione per l'ossigeno, con riduzione della concentrazione di ossigeno disciolto in soluzione. A sua volta questo può portare a negativi effetti sull'apparato radicale con maggiore suscettibilità alle malattie e talvolta a morte. Anche la decomposizione della sostanza organica porta a consumo di ossigeno e talvolta compattamento del substrato (se

presente), con riduzione del flusso di ossigenazione. Per ridurre questi problemi possono risultare utili frequenti rifornimenti della soluzione nutritiva con acqua satura di ossigeno (Raviv and Lieth, 2008). Nel caso dell'*NFT*, in cui questi problemi erano molto frequenti, è stato sviluppato un sistema chiamato *Super Nutrient Film Technique*. Qui la soluzione nutritiva è distribuita da ugelli ad ogni singola pianta e grazie al profilo modificato delle canalette, può scorrere anche trasversalmente, evitando che soluzione impoverita da piante che si trovano a monte bagni le radici di piante vicine (Tognoni et al., 2005).

### **Diffusione**

Le tecniche di coltivazione *soilless* moderne, nonostante abbiano ormai alle loro spalle quasi 80 anni di storia all'interno dei centri di ricerca, non hanno riscontrato in passato grande successo nel mondo commerciale (Malorgio, 2004; Tognoni, 2005). Fino agli anni '60 infatti, non esistevano produzioni commerciali di un certo rilievo da un punto di vista statistico (Malorgio, 2004). In anni recenti però, l'idroponica ha registrato discreti progressi, come mezzo di produzione intensiva; a livello mondiale la superficie interessata è stimata in 30.000 ettari (Tognoni, 2005). Le zone con la maggior diffusione di questi sistemi di coltivazione sono sicuramente il Giappone e l'Europa Occidentale (12.000 ettari su substrato). In Europa il paese *leader* è sicuramente l'Olanda, che oltre a destinare una notevole superficie a tali tecniche colturali (5.000 ettari, che rappresentano il 90% delle coltivazioni di ortaggi e fiori recisi prodotti in serra), presenta un'indiscussa tradizione e un'attività di ricerca molto intensa in questo settore (van Os and Stanghellini, 2001). In Spagna e Grecia le coltivazioni *soilless* sono in fase di espansione e da alcuni anni anche in Italia è cresciuto l'interesse verso questi sistemi di coltivazione. La superficie investita in Italia nel 1990 era inferiore ai 50 ettari, per lo più concentrati in Sardegna (Malorgio, 2004). Successivamente si è registrata una certa diffusione che ha portato secondo Tognoni e Incrocci (2003) e Malorgio (2004), le superfici investite a 700-800 ettari, che rappresentano circa il 3% della superficie protetta nel nostro Paese. Le zone dove risulta maggiormente diffusa sono il Veneto per fragola e ortaggi da foglia, il Trentino per la fragola, la Sicilia e la Sardegna per



il pomodoro, la Toscana, Liguria, Lazio e Campania per la gerbera e la rosa. La tecnica *soiless* sicuramente predominante è la coltivazione su substrato, con una discreta diffusione del *floating system* per la produzione degli ortaggi da foglia, dedicati principalmente al mercato della IV gamma. Questa tecnica sembra particolarmente adatta per gli ortaggi da foglia, essendo particolarmente vantaggiosa sia da un punto di vista economico, sia per la pulizia del prodotto ottenuto, che risulta ideale per il mercato della IV gamma (Sportelli, 2003).

I sistemi *soiless* presentano notevoli potenzialità, sia produttive che legate al ridotto impatto ambientale. Tuttavia se ancora oggi non hanno visto grande diffusione, la motivazione principale è da ricercare negli elevati costi degli impianti, variabili da 5-10 a 40-50 euro/m<sup>2</sup> (Malorgio, 2004). Vista la situazione mondiale di precedente stagnazione economica e di recessione attuale, appare difficile uno sviluppo di queste tecniche in un futuro prossimo, senza un lavoro mirato a rendere più economici questi impianti di coltivazione.

#### 1.1.4. Raccolta della lattuga

La raccolta delle lattughe coltivate in campo, avviene in Italia in tutto l'arco dell'anno. Di solito l'epoca di raccolta al Sud è tra novembre e aprile, mentre al Nord tra aprile e Giugno. Per le lattughe cappuccio si effettua la raccolta manuale o di rado meccanica, per quelle da taglio si utilizzano invece apposite macchine. La raccolta manuale, eseguita mediante estirpamento o la recisione con coltelli nella zona del colletto, anche se preserva la qualità esteriore del prodotto, richiede l'impiego di molte ore manodopera. In genere l'imballaggio del prodotto, in scatoloni che contengono da 18 a 30 grumoli, o in cassetine, avviene direttamente in campo (Bianco and Pimpini, 1990).

Per quanto riguarda le macchine per la raccolta delle lattughe in campo ne esistono diversi modelli. Si va dalle semplici raccoglitrice-agevolatrici a macchine più complesse, completamente automatiche, in grado cioè di determinare il livello di sviluppo delle piante e se adeguato di effettuare la raccolta delle stesse. Per quanto riguarda le lattughe da taglio, si utilizzano invece le stesse macchine impiegate per la raccolta dello spinacio.

La lattuga coltivata in ambiente protetto, è raccolta manualmente se si adotta la normale coltivazione su suolo. Se invece si adottano sistemi fuori suolo di frequente la raccolta è meccanizzata. Nel *floating system* ad esempio una volta che le piante hanno raggiunto il livello di crescita ottimale, vengono prelevati i pannelli di polistirolo dalle vasche e vengono posti nella macchina dotata di testata di taglio. Un nastro trasportatore fa avanzare i pannelli, alimentando la testata (Pimpini et al., 2005). La raccolta può essere ovviamente effettuata anche a mano, con tempi però notevolmente più lunghi.

### 1.1.5. *Post harvest* (IV gamma)

Da un punto di vista merceologico i prodotti ortofrutticoli possono essere suddivisi in diverse categorie o gamme a seconda della tecnologia conservativa adottata. La IV gamma o *fresh cut*, appartenente alla più ampia categoria dei prodotti *ready to use* o *ready to eat*, comprende prodotti ortofrutticoli freschi, che dopo essere stati selezionati, lavati, tagliati e asciugati vengono confezionati e sigillati in sacchetti o vaschette (Fig. 1.9). Sono quindi pronti per il consumo tal quali o dopo cottura, comunque senza la necessità di subire ulteriori manipolazioni da parte dell'acquirente con evidenti risparmi di tempo e lavoro (Massantini and Salcini, 2003; Rosito, 2004; Lunati 2007; Dalla Rosa and Rocculi, 2007).



**Fig. 1.9.** Alcuni esempi di prodotti IV gamma che è possibile trovare presso i supermercati.

Questa tipologia di prodotti ha fatto la sua comparsa sul mercato a partire dalla fine degli anni '60 negli Stati Uniti, come cibo adatto ai fast food. Negli ultimi due decenni però questi prodotti sono comparsi anche sul mercato europeo. Inizialmente si sono diffusi in Francia, Gran Bretagna e Olanda (Watada et al., 1996), ma ben presto a partire dalla seconda metà degli anni '80 (Lunati, 2007) sono giunti anche sul mercato nostrano e in Germania, raggiungendo in breve tempo un'importanza non trascurabile (Massantini and Salcini, 2003). Il motivo

del loro successo è da ricercare nel fatto che oggi il consumatore cerca in un prodotto alimentare il risparmio di tempo nella preparazione, la praticità nell'uso e la sicurezza-salubrità (Bassoli, 2003). I prodotti IV gamma rappresentano una risposta ideale a queste richieste. Riescono infatti a coniugare la freschezza, sanità e le caratteristiche del prodotto “appena colto”, alle esigenze di praticità legate ad un suo consumo rapido (Lunati, 2003; Oms-Oliu et al., 2008a).

Il numero di referenze oggi presente nei supermercati è notevole ed accanto alle numerose insalate singole o miste (*baby leaf*), si affiancano carote e cetrioli a fili o rondelle, erbe, bietole, spinaci, rucola valeriana, sedano, rapa, cavolo cappuccio, mais, ravanelli, etc. (Lunati, 2007).

Il processo produttivo di questi prodotti è piuttosto semplice, tuttavia è importante specialmente in passaggi chiave la massima precisione e tempestività. Per quanto riguarda gli ortaggi da foglia, il prodotto raccolto deve essere subito trasferito al magazzino di conservazione e lavorazione e refrigerato a 1-4 °C. Se per il trasporto si impiegano oltre 2-3 ore, o le temperature ambiente sono elevate, è opportuno che avvenga su mezzi refrigerati (Pimpini et al., 2005). Dai locali di primo stoccaggio il prodotto destinato alla IV gamma deve seguire alcuni passaggi prima di poter essere immesso sul mercato. Il materiale nella maggioranza dei casi subisce una cernita manuale, per eliminare tutto ciò che risulta indesiderato e quindi qualitativamente non adatto o estraneo. Successivamente il prodotto viene tagliato se necessario (es. lattuga, radicchio, cavolo verza) e sottoposto ad un lavaggio multiplo, con acqua a bassa temperatura (1-4 °C), in 2 o 3 fasi per l'eliminazione dei corpi estranei e la sanitizzazione (Pimpini et al., 2005; Donati, 2003). La sanitizzazione ha l'obiettivo di abbattere la carica microbica, con aggiunta di cloro nell'acqua (soluzioni 50-200 mg/kg) e/o sottoponendo questa a trattamento con raggi UV (Pimpini et al., 2005; Velázquez et al., 2008). Segue l'asciugatura del prodotto, per eliminare l'acqua di lavaggio dalle foglie, al fine di ridurre il quantitativo di acqua libera che poi si troverà all'interno delle confezioni. A questo fine esistono 2 metodi: uso di centrifughe

e di tunnel ad aria. Vista la scarsa consistenza degli ortaggi a foglia il secondo metodo risulta sicuramente migliore. Successivamente il prodotto è pesato, confezionato e mantenuto a temperatura non superiore a 5°C, evitando che si interrompa anche solo per brevi periodi la catena del freddo e umidità relativa dal 95 al 100% (Pimpini et al., 2005; Donati, 2003).

I prodotti IV gamma presentano una *shelf-life* ridotta, in genere 3-4 giorni, a causa di processi degenerativi di natura metabolica e microbica, rispetto agli stessi prodotti di I gamma, in cui in alcuni casi è di settimane o mesi. I prodotti minimamente trattati infatti presentano una maggiore deperibilità a seguito di diversi fattori (Massantini and Salcini, 2003; Randazzo et al., 2008). Operazioni quali il taglio e la pelatura determinano una condizione di stress, con incremento della respirazione, aumento della produzione di etilene, della traspirazione ed evaporazione, maggiore suscettibilità all'ingresso di patogeni e aumento dell'attività di enzimi quali la fenilalanina ammonio liasi (PAL) (Massantini and Salcini, 2003; Degli'Innocenti et al., 2006). Inoltre c'è l'influenza dei fattori esterni, in particolar modo del tipo di materiale d'imballaggio usato, dell'umidità e delle temperatura (Massantini and Salcini, 2003). Tra i fattori esterni, la temperatura è sicuramente quello in grado di esercitare l'influenza maggiore su questi prodotti, al crescere della temperatura di conservazione aumenta infatti il tasso di respirazione e la proliferazione di microrganismi (Jacxsens et al., 2002; Massantini and Salcini, 2003). Vista perciò l'elevata deperibilità dei prodotti IV gamma, è preferibile utilizzare temperature di conservazione più basse possibili, al limite del danno da freddo (Massantini and Salcini, 2003; Donati, 2003). Jacxsens et al. (2002) consigliano ad esempio per cetrioli tagliati a fette, insalata mista e peperoni di mantenere la temperatura di conservazione a 4°C. Le basse temperature hanno un effetto positivo anche sulla produzione di etilene, indotto dal taglio del prodotto, che porta ad una rapida perdita di consistenza dello stesso (Massantini and Salcini, 2003). La perdita di colore è un fenomeno molto grave, in quanto il colore è un elemento che esercita una forte attrattiva sull'acquirente ed eventuali difetti in questo ambito sono facilmente rilevati

(Degli'Innocenti et al., 2006). I processi di imbrunimento sono nella maggior parte dei casi di origine enzimatica o dovuti alla disidratazione del prodotto. Per evitare la disidratazione è utile mantenere alti livelli di umidità relativa all'interno della confezione abbinato all'uso di materiali antifog, per evitare che la condensa che eventualmente si forma cada sul prodotto (Massantini and Salcini, 2003; Donati, 2003). Nella mela, pera e lattuga gli imbrunimenti sono provocati dall'azione della polifenolo ossidasi (PPO), che ossida i prodotti della reazione catalizzata della fenilalanina ammonio liasi (PAL). Elevato contenuto in fenoli o elevata attività dell'enzima PAL sembrano essere fortemente correlati con la suscettibilità all'imbrunimento in lattuga IV gamma (Degli'Innocenti et al., 2006).

Un effetto positivo di resistenza all'imbrunimento sembra esercitato dal acido ascorbico (ASA); prodotti con maggiori concentrazioni di ASA nei tessuti come la rucola riescono a mantenersi integri per tempi molto più lunghi rispetto ad altri con concentrazioni basse, come lattuga e cicoria (Degli'Innocenti et al., 2006). Tra le strategie per controllare l'azione di questi enzimi c'è sicuramente l'impiego di basse temperature, la riduzione della quantità di ossigeno e l'uso del confezionamento in atmosfera protettiva. Sono tuttavia importanti anche operazioni come la pelatura e il taglio, queste dovrebbero arrecare il minor danno possibile ai tessuti, ad esempio tramite l'uso di lame affilate, che tra l'altro limitando le superfici esposte riducono la perdita di acqua. Altresì importante è il lavaggio del prodotto dopo l'esecuzione di queste operazioni al fine di eliminare substrati ed enzimi potenzialmente deleteri (Massantini and Salcini, 2003; Degli'Innocenti et al., 2006). Recentemente è stato sperimentato l'uso di estratti di thè verde su lattuga minimamente trattata. Basse concentrazioni (0,25 g/100 ml), sembrano in grado di garantire una buona preservazione del contenuto di acido ascorbico e carotenoidi nel prodotto, e quindi della sua qualità nutrizionale. L'uso di concentrazioni più elevate (0,5-1 g/100 ml) invece non risulta incrementare gli effetti positivi, mentre provoca un facile imbrunimento dei tessuti, che comporta una notevole riduzione della qualità sensoriale del prodotto (Martín-Diana et al., 2008).

Oltre ai problemi legati al decadimento della qualità dei prodotti IV gamma, un altro aspetto, sicuramente non meno importante, è la loro possibile contaminazione con microrganismi di specie diverse (es. *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7, *Shigella* spp., *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica* e *Listeria monocytogenes*) che possono rappresentare una seria minaccia alla salute (Jacxsens et al., 2002; Samara and Koutsoumanis, 2008; Randazzo et al., 2008; Velázquez et al., 2008; Ölmez and Akbas, 2009). Una delle specie di microrganismi rilevato con elevata frequenza in molti ortaggi è il batterio gram positivo, *Listeria monocytogenes*. Questo patogeno è considerato ubiquitario in agricoltura, essendo stato rinvenuto nel suolo, feci, acque di scarico, insilati, letame, acqua, fieno, mangimi di animali, polvere, uccelli, bestiame e nell'uomo stesso. Per questo la contaminazione con questo patogeno risulta molto facile e si verifica assai di frequente. Dal 1° gennaio 2006 il Regolamento (EC) 2073/2005 della Commissione Europea, stabilisce nuovi parametri in riferimento ai microrganismi nei cibi. In particolare per i cibi pronti all'uso sui quali può svilupparsi *L. monocytogenes*, i nuovi limiti richiedono l'assenza del patogeno su 25 g; in precedenza la normativa vigente stabiliva il limite di 100 UFC/g (Samara and Koutsoumanis, 2008). La normativa e la contemporanea prevalenza di *L. monocytogenes* negli ortaggi freschi, hanno spinto le industrie di trasformazione di questi prodotti, allo sviluppo di metodi efficaci per il controllo di questo patogeno. I metodi di controllo si possono suddividere in preventivi da adottarsi durante la coltivazione agricola e durante il processo di trasformazione, uniti all'“analisi dei rischi e controllo dei punti critici” (HACCP) e diretti. Quelli diretti includono la rimozione fisica (raggi UV) o la decontaminazione chimica con uso di prodotti in grado di liberare cloro, acqua ossigenata, acidi organici, ozono, o altre sostanze (Samara and Koutsoumanis, 2008; Ölmez and Akbas, 2009).

Il cloro è sicuramente il prodotto maggiormente utilizzato per il lavaggio di frutta e ortaggi di I e IV gamma, per la riduzione della carica microbica potenzialmente patogena. Tuttavia vista la sua tendenza a reagire sui prodotti

freschi producendo composti carcinogenici (clororganici), si stanno saggiando vari metodi alternativi per la sanitizzazione di questi prodotti (Velázquez et al., 2008).

Gli acidi organici (acetico, lattico, malico, citrico, etc.) sono normali costituenti di molti cibi e ampiamente usati come additivi e come sostanze per sanitizzare in superficie molti alimenti. L'azione antimicrobica degli acidi nei cibi dipende tuttavia dalla concentrazione e dal metodo di applicazione, oltre che dalla temperatura, pH, attività dell'acqua, presenza di ossigeno, etc. (Samara and Koutsoumanis, 2008). Samara e Koutsoumanis (2008) hanno testato l'effetto decontaminante di diversi acidi organici, sulla crescita e sopravvivenza di *L. monocytogenes* su lattuga fresca. Lattuga inoculata con il batterio e immersa in acqua pura o in differenti soluzioni di acidi organici a concentrazioni diverse, era successivamente conservata a 5 e 20 °C per 20 e 10 giorni rispettivamente. Gli acidi che si sono dimostrati più efficaci nell'abbattimento della popolazione del patogeno e nel controllo della successiva crescita sono stati l'acido lattico, acetico e propionico alla concentrazione più alta (1%); mentre non si registrava alcun effetto da parte dell'acido citrico alla stessa concentrazione. L'acido lattico inoltre non determinava alcun effetto negativo sulla qualità sensoriale del prodotto, come invece provocato dall'acido acetico e propionico (Samara and Koutsoumanis, 2008). Altrettanto interessante per il controllo dei microrganismi patogeni, risulta l'uso dell'ozono. L'ozono infatti, utilizzabile anche per i prodotti biologici, nonostante i problemi che può provocare agli impianti, fornisce risultati molto interessanti se opportunamente utilizzato (Ölmez and Akbas 2009). In particolare Ölmez e Akbas (2009) hanno osservato che trattamenti della durata di 2 minuti, su foglie di lattuga verde, con ozono alla concentrazione di 2 mg/kg, risultano essere ottimali. Riescono infatti a garantire ancora un notevole controllo del carico microbico, senza arrecare gravi danni agli impianti, salvaguardando la qualità sensoriale del prodotto in maniera migliore rispetto all'uso di cloro o acidi organici. Negli ultimi anni diverse ricerche stanno focalizzando la loro attenzione su anche su metodi puramente biologici di controllo dei patogeni maggiormente diffusi negli



ortaggi. Randazzo et al. (2008) ad esempio ha testato l'efficacia di batteriocina ricavata da *Lactococcus lactis* (RUC9), per il controllo di *L. monocytogenes*, su lattuga iceberg artificialmente inoculata. Sebbene il trattamento non è stato in grado di garantire una completa eliminazione del patogeno, ne ha ridotto in maniera consistente la popolazione. Per questo la batteriocina RUC9 risulta un prodotto sicuramente utile come sanitizzante, permettendo una forte riduzione dell'uso di prodotti chimici a questo fine (Randazzo et al., 2008).

### **Situazione economica del comparto**

Come affermano Lunati (2007) e Della Casa (2008), il mercato dei prodotti IV gamma è in fase di espansione nel nostro Paese. Nel 2007 la crescita in valore del comparto è stata attorno al 10%, in leggero calo rispetto agli anni precedenti ma comunque ancora molto forte. Il consumo pro-capite si attesta su valori di 1,2 kg, con differenze marcate a livello regionale. Sono infatti più elevati al Centro-Nord, dove predominano Toscana (2,57 kg), Lombardia e Lazio e ancora ridotti al Sud, con valori medi attorno a 0,5 kg. La mappa della dislocazione delle aziende di trasformazione mette in luce che la maggior parte degli stabilimenti si trovano nel Nord Italia, fatto che è facilmente spiegato in quanto la maggior parte dei consumi avviene in quest'area (Lunati, 2003). Il comparto delle insalate sia semplici, sia mix, rappresenta quello più importante, sia in termini di volumi (>75%), sia in termini di valore (>85%) (Lunati, 2003; Della Casa, 2008). Questo ha fatto registrare nell'ultimo anno una crescita importante delle vendite di quasi il 6% in valore, dimostrando di avere ancora buoni margini di incremento (Della Casa, 2008). I prodotti IV gamma hanno attirato negli ultimi anni l'interesse della grande distribuzione organizzata (gdo), che in diversi casi si è proposta con linee di prodotti con *private label*. Questo perché l'industrializzazione del trattamento di prodotti quali gli ortaggi freschi, riduce sicuramente gli scarti e facilita la gestione di questa categoria di prodotti (Bassoli, 2003; Lunati, 2003). Inoltre le confezioni sigillate possono fungere da potenziale veicolo di immagine per la catena che distribuisce il prodotto e che vi appone il proprio logo, in questo modo la IV gamma rafforza l'identità del punto vendita (Lunati, 2007). I prodotti IV gamma non possono

essere considerati a buon mercato, in quanto il prezzo di vendita può essere anche quattro volte le quotazioni del corrispondente prodotto fresco, considerato come possibile alternativa di acquisto. Tuttavia appare evidente che è da ricercare nella praticità e nella velocità di preparazione, dunque nel contenuto di servizio incorporato nel prodotto, la giustificazione di un prezzo molto più elevato rispetto al fresco (Lunati, 2007).

## 1.2. QUALITÀ DEGLI ORTAGGI DA FOGLIA

Quando si analizza il concetto di qualità dei prodotti alimentari e nello specifico degli ortaggi, è necessario tener presente che non esistono caratteristiche qualitative universalmente valide. Infatti generalmente queste caratteristiche sono tipiche di ciascun prodotto o di una classe di prodotti simili. Secondo La Malfa (1992), il concetto di qualità di prodotto si basa sulle caratteristiche percepite direttamente dagli organi sensoriali del consumatore (proprietà organolettiche dei frutti, colorazione intensa delle foglie) e su quelle percepite astrattamente, come la sicurezza alimentare o il valore nutrizionale.

### 1.2.1. Generalità

Le caratteristiche qualitative di un qualsiasi prodotto e quindi anche degli ortaggi da foglia, sono di sicuro fortemente influenzate dal mercato di riferimento. Tuttavia è possibile individuare alcune caratteristiche generali, che vanno al di là dei requisiti minimi richiesti dalla legge. Queste caratteristiche possono essere classificate in estrinseche, ossia apprezzabili a livello visivo o al tatto ed intrinseche ossia legate alle proprietà interne al prodotto.

Quelle estrinseche riguardano il colore, la forma, la dimensione, la consistenza e l'uniformità del prodotto. Tuttavia a queste proprietà legate direttamente al prodotto se ne possono aggiungere altre, sempre riguardanti aspetti esteriori, ma non del prodotto, bensì dell'imballaggio e dell'etichettatura. In particolare rivestono una certa importanza la praticità e l'attrattiva dell'imballaggio e la chiarezza e completezza delle indicazioni riportate in etichetta, relative a scadenza, valore nutrizionale, rintracciabilità, etc.

I diversi ortaggi da foglia da taglio (rucola, valerianella, cicoria, bietola, spinacio e lattuga) presentano caratteristiche morfologiche abbastanza differenti, tuttavia è possibile individuare alcuni aspetti comuni della loro qualità estrinseca. Le foglie ad esempio devono presentarsi:

- ❖ singole o in rosetta compatta (valerianella);
- ❖ integre, turgide, tenere, pulite;
- ❖ di colore e forma tipiche della specie e varietà;
- ❖ di lunghezza definita da 50 a 150 mm in relazione al mercato di destinazione;
- ❖ prive di ossidazioni nel punto di taglio.

Inoltre non devono presentare:

- ❖ danni da gelo o lesioni meccaniche;
- ❖ umidità eccessiva con acqua tra le foglie che ne provochi l'aderenza;
- ❖ muffe o evidenti danni da attacchi parassitari (ingiallimenti, necrosi);
- ❖ corpi estranei (insetti, erbe infestanti, paglia, legno, foglie secche);
- ❖ infiorescenze e tomentosità.

Per quanto riguarda le caratteristiche intrinseche quelle che rivestono importanza maggiore sono invece:

- ❖ residui antiparassitari;
- ❖ carica microbica (numerosità e specie presenti);
- ❖ sapore;
- ❖ contenuto di nitrati;
- ❖ valore nutrizionale (contenuto di vitamine, proteine e sostanze antiossidanti).

I residui di prodotti antiparassitari sono controllati secondo indicazioni stabilite a norma di legge. Il DM 27 agosto 2004 del Ministero della Salute, che sostituisce il precedente DM 19/05/2000, stabilisce i limiti massimi ammessi di principio attivo presente e i tempi di carenza, tuttavia le singole aziende produttrici o associazioni di produttori sono ovviamente libere di adottare disciplinari di produzione che prevedono limitazioni più restrittive.

La carica microbica riveste un crescente interesse nella valutazione qualitativa del prodotto, perciò risulta necessario adottare misure apposite durante la coltivazione al fine di contenerne il più possibile l'entità. Gli aspetti da tenere maggiormente sotto controllo sono sicuramente l'uso di sostanza organica e di acque di irrigazione contaminate. È opportuno ove possibile preferire le acque di falda alle acque superficiali e prestare particolare attenzione alla pulizia di attrezzature per la raccolta e imballaggi (Pimpini et al., 2005).

La qualità degli ortaggi coltivati fuori suolo, come affermano Santamaria e Valenzano (2001), non è sostanzialmente differente da quella degli ortaggi prodotti sul suolo. Anzi spesso quelli fuori suolo possono avere qualche aspetto qualitativo, ad esempio il valore nutrizionale migliore.

### 1.2.2. I nitrati ed il consumo degli ortaggi da foglia

Il nitrato è molto importante nella nutrizione delle piante, tuttavia esso può diventare un problema serio per la salute umana. Di frequente infatti i nitrati si accumulano nei vegetali in elevate concentrazioni, in dipendenza di numerosi fattori biotici e abiotici. In modo particolare gli organi in cui i nitrati tendono ad accumularsi sono le foglie, mentre nei semi e nei tuberi i livelli sono molto inferiori. Il nitrato si muove all'interno delle piante per via xilematica, muovendosi dalle radici alle foglie. Questo spiega perché gli organi di riserva hanno concentrazioni di azoto notevolmente inferiori rispetto alle foglie (EFSA, 2008). Per questo motivo gli ortaggi da foglia possono rappresentare una fonte molto importante di nitrato nella dieta umana. I nitrati a cui è esposto l'uomo sono infatti principalmente di natura esogena, introdotti dunque attraverso la dieta, con il consumo di ortaggi, acqua e altri cibi (EFSA, 2008). Questo spiega perché è stato fissato a partire da 1997, con il Reg. [CE] n. 194/97 della Commissione, del 31 gennaio 1997 (sostituito dal Reg. [CE] n. 563/2002 e recentemente dal Reg. [CE] n. 1881/2006), un contenuto massimo ammissibile di nitrati negli ortaggi da foglia, da parte della Comunità Europea (*Tab. 1.2*). A diversi stati membri tuttavia è stato concesso un periodo di transizione, fino al 31 dicembre 2008, per rientrare con le opportune pratiche agricole, nei limiti della normativa.

Il nitrato in quanto tale ha una limitata tossicità, ma i suoi metaboliti (nitrito, ossido nitrico e composti con azoto nitroso) risultano particolarmente dannosi per la salute umana, in quanto risultano responsabili di metaemoglobinemia e carcinogenesi. Tuttavia visti gli effetti positivi accertati sulla salute umana, gli ortaggi restano ampiamente consigliati nella dieta quotidiana. La prima valutazione a livello internazionale dei rischi associati all'ingestione di nitriti e nitrati era condotta nel 1961 da parte di una commissione congiunta FAO/WHO (EFSA, 2008).

La Commissione Europea tramite lo Scientific Committee on Food (SCF) nel 1995 e successivamente la FAO/WHO nel 2002, tramite il Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA), hanno indicato come quota giornaliera accettabile

(ADI) di nitrati 3,7 mg/kg di peso corporeo/giorno, corrispondenti a 222 mg per giorno per una persona adulta di 60 kg.

**Tab. 1.2.** Livelli massimi di nitrati per alcuni alimenti, così come stabilito dal Reg. [CE] n. 1881/2006. (Fonte: EFSA, 2008).

<b>Cibo</b>	<b>Livello massimo di nitrati (mg/kg)</b>
Spinaci freschi ( <i>Spinacia oleracea</i> )	Raccolta dal 1 ottobre al 31 marzo 3.000 Raccolta dal 1 aprile al 30 settembre 2.500
Spinaci congelati o surgelati	2.000
Lattuga fresca ( <i>Lactuca sativa</i> L.) (cresciuta in pieno campo o protetta, tranne quella elencata sotto)	Raccolta dal 1 ottobre al 31 marzo: cresciuta sotto copertura 4.500 cresciuta in pieno campo 4.000 Raccolta dal 1 aprile al 30 settembre: cresciuta sotto copertura 3.500 cresciuta in pieno campo 2.500
Lattuga tipo Iceberg	Cresciuta sotto copertura 2.500 Cresciuta in pieno campo 2.000
Cibi per neonati e bambini contenenti cereali	200

Considerando un consumo di ortaggi e frutta consigliato dal WHO di 400 g/giorno, e ammettendo che sia rappresentato solo da ortaggi con concentrazione di nitrati medio, la quota di nitrati introdotta dovrebbe essere di circa 157 mg/giorno. Aggiungendo a questi, i nitrati provenienti normalmente dall'acqua e degli insaccati (35-44 mg/persona/giorno), si è ancora al disotto del limite ADI. Tuttavia se gli ortaggi ingeriti sono rappresentati per la maggior parte da vegetali da foglia non è difficile raggiungere l'ADI e superarlo, specialmente se gli stessi vegetali sono stati coltivati in condizioni non adatte o che comunque favorivano l'accumulo di nitrati. Alcuni ortaggi da foglia possono accumulare alti livelli di nitrati, la cui concentrazione dipende da fattori quali il genotipo, la stagione, i livelli di illuminazione, le temperature, i fertilizzanti usati. È sufficiente ad

esempio ingerire 47 g di rucola per raggiungere l'ADI. In Europa c'è una tendenza ad avere concentrazioni maggiori nei prodotti ottenuti d'inverno e alle latitudini più a nord, proprio a seguito di una luminosità inferiore e un albedo più breve (EFSA, 2008). Una migliore comprensione degli effetti dei fattori ambientali sull'accumulo di nitrati risulta necessario, per una gestione della coltura in grado di portare a produzioni accettabili (Dapoigny et al., 2000; Santamaria and Valenzano, 2002). Stime dell'EFSA (2008) riportano come la quota media di nitrati assunta in Regno Unito e Francia sia circa 91 e 141 mg per persona al giorno, dei quali il 52 e il 75% rappresentata da ortaggi. Il nitrito assunto è invece inferiore e rispettivamente di 1,5 e 2 mg per persona al giorno. Considerando però il quantitativo derivato dalla conversione endogena del nitrato le quote passano rispettivamente a 7,3 e 11,3 mg per persona al giorno. Come risulta dall'analisi effettuata dall'Agenzia Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA) su 42.000 risultati analitici provenienti da 21 stati membri, tra il 2000 e il 2007, su 91 varietà di ortaggi, il contenuto di nitrati è notevolmente variabile passando da 1 mg/kg in campioni di piselli e cavoli di Bruxelles a 4800 mg/kg in rucola. Per questa ragione non è tanto la quantità di ortaggi ingerita che può provocare eccessivo apporto di nitrati con la dieta, bensì il tipo di ortaggi e il loro contenuto in nitrati, elemento critico che può condurre ad esposizioni a rischi da parte dei consumatori.

Negli animali e nell'uomo i nitrati sono rapidamente assorbiti nello stomaco e nell'intestino giungendo nel plasma sanguigno. Almeno il 25% di questi arriva alle ghiandole salivari, dove può raggiungere concentrazioni 10 volte superiori a quelle presenti nel plasma. Batteri che vivono alla base della lingua trasformano circa il 20% del nitrato secreto in nitrito, il quale viene deglutito assieme al nitrato non convertito. Nelle persone sane il tasso di conversione del nitrito in nitrato è di circa il 5-7%. Tuttavia nei bambini fino ai tre mesi di età, dove la produzione di acidi gastrici è molto ridotta e in persone che soffrono di gastroenteriti, con valori di pH nello stomaco più elevati del normale (anche oltre pH 5), questo tasso può essere notevolmente più elevato, a seguito dell'azione di batteri. In questi casi il tasso di conversione è molto più alto, raggiungendo in alcuni casi anche il 20%. Il nitrito una volta raggiunto l'ambiente acido dello stomaco è rapidamente



convertito in acido nitroso, che spontaneamente si decompone in ossidi di azoto, compreso l'ossido nitrico (EFSA, 2008; Bottex et al., 2008).

Ricerche sull'uomo, che prevedevano l'uso di azoto marcato, hanno confermato la formazione endogena di nitrosammine, responsabili della formazione della metaemoglobina, a partire dal nitrato, attraverso la via dell'ossido nitrico e capaci di indurre cercinogenesi. Altre ricerche hanno evidenziato come diete normali, con apporti di sostanze bioattive (in particolare antiossidanti), come quelle presenti in frutta e verdura, possono ridurre il quantitativo di nitrosammine prodotte a partire dal nitrato fino a dimezzarlo. La tossicità acuta del nitrato negli animali è generalmente bassa, con una dose letale ( $LD_{50}$ ) di 2.500-2.600 mg per kg di peso corporeo al giorno nei topi, 3.300-9.000 in ratti, 1.900-2.680 in conigli e 300 in maiali. Il nitrito presenta invece un livello di tossicità di 10 volte superiore, con  $LD_{50}$  che sono di conseguenza circa 10 volte inferiori. La tossicità cronica del nitrato non sembra molto grave, almeno alla luce delle ricerche fin qui realizzate, mentre la tossicità cronica del nitrito è accertata su topi già a concentrazioni di circa 1000 mg di nitrito di sodio per kg di peso corporeo al giorno. Nei topi i danni prodotti dall'esposizione prolungata a nitrito sono riduzione del peso corporeo, del peso assoluto e relativo degli organi interni, del numero di spermatozoi nei maschi e disturbi nel ciclo estrale nelle femmine (EFSA, 2008).

### 1.2.3. Composti antiossidanti

Gli antiossidanti sono specie chimiche in grado di reagire con i radicali liberi, che si formano frequentemente a seguito di reazioni di ossidazione, in maniera da bloccarne o rallentarne l'azione negativa di danneggiamento cellulare (Bergquist, 2006; Du et al., 2009). I radicali liberi infatti sono specie molto reattive, che vanno a colpire principalmente gli acidi grassi, come quelli presenti nelle membrane cellulari, le proteine e gli acidi nucleici, con danni molto consistenti alle cellule colpite. I composti antiossidanti appartengono ad una classe molto eterogenea tra loro, con differente strutture chimiche e caratteristiche (idrofili o idrofobici), diversa distribuzione in natura, livello di concentrazione in sistemi biologici, siti di azione, efficacia contro le specie ossidanti, nonché presenza di altre azioni biologiche oltre quella antiossidante. La capacità antiossidante complessiva di frutta e ortaggi può essere determinata per mezzo di diversi metodi: ABTS, DPPH, ORAC, SASR, MCC e FRAP (Du et al., 2009).

Alcune classi di antiossidanti ben conosciute, come i carotenoidi, le vitamine, i tocoferoli e i polifenoli meritano particolare attenzione. Questo non solo perché sono quelli maggiormente presenti negli alimenti, in particolare in frutta e verdura, ma anche perché sono assorbiti e metabolizzati in maniera differente ed hanno funzioni diverse, tutte molto importanti per garantire la salute umana (Porrini and Riso 2008; Du et al., 2009). È molto importante valutare oltre al contenuto di composti antiossidanti, anche la loro biodisponibilità. Esistono in bibliografia diverse definizioni di biodisponibilità, tuttavia secondo Porrini e Riso (2008), è da intendersi come quella frazione dei nutrienti o composti ingeriti che raggiungono il sistema circolatorio o lo specifico sito dove essi esercitano la loro azione biologica. Essendo difficile determinare l'assorbimento di antiossidanti da parte dei tessuti umani, i dati a disposizione in bibliografia sono stati ricavati indirettamente, con ricerche sul rilascio di antiossidanti dalle matrici dei cibi e la loro concentrazione nel sangue o nelle urine, rilevata dopo l'assunzione degli stessi con la dieta. I fattori influenzanti la biodisponibilità dei composti antiossidanti sono molto numerosi. I principali sembrano essere la forma

strutturale, i legami molecolari che presentano (eventuale esterificazione, glicosilazione), il quantitativo introdotto, l'interazione con altri composti, la natura della matrice del cibo, la presenza o meno di effettori dell'assorbimento (proteine specifiche, etc.), il trattamento a cui è stato sottoposto il cibo, la condizione generale dell'ospite (Porrini and Riso 2008).

Il contenuto di composti antiossidanti e bioattivi in genere, nelle piante è influenzato da vari fattori interni ed esterni alla pianta, sia nel periodo pre- che post-raccolta. Uno di questi fattori è sicuramente la disponibilità dei vari elementi nutritivi (Fanasca et al., 2006; Bergquist, 2006). Fanasca et al. (2006) hanno notato ad esempio che in pomodoro, un elevato quantitativo di potassio nella soluzione nutritiva incrementa nei frutti il contenuto di composti antiossidanti, specialmente di licopene. Vari autori hanno evidenziato invece la forte influenza che può avere il genotipo; infatti mentre certi composti antiossidanti quale l'acido ascorbico è ubiquitario, altri sono specifici di certe famiglie o addirittura specie.

### **Carotenoidi**

I carotenoidi sono pigmenti naturali, responsabili delle colorazioni rosse, gialle e arancioni nelle piante. Chimicamente sono tetraterpenoidi idrofobi, costruiti a partire da unità isoprenoidi a 5 atomi di carbonio. Quelli maggiormente presenti nei cibi sono il  $\beta$ -carotene, la luteina, la  $\beta$ -criptoxantina, il licopene e la violaxantina (Dutta et al., 2005). Sia in piante che negli animali i carotenoidi sono sempre associati alla frazione lipidica, a seguito della loro natura idrofoba. Le funzioni biologiche dei carotenoidi sono molteplici. Il  $\beta$ -carotene ad esempio che nelle piante riveste la funzione di pigmento accessorio, negli animali ha l'importante ruolo di precursore della vitamina A. Di essa se ne conoscono molto bene le fondamentali funzioni, di mantenimento della vista, differenziazione cellulare, sintesi di glicoproteine, crescita e sviluppo delle ossa, etc. (Dutta et al., 2005). Diversi autori indicano la carenza della vitamina A come la più grave carenza nutrizionale a livello mondiale. Stime indicano che oltre un milione di bambini (con età compresa tra 6 mesi e sei anni) soffrono gravi carenze di questa vitamina, che spesso porta alla perdita della vista e nei casi più gravi alla morte. Secondo la FAO il quantitativo ottimale raccomandato di pro-vitamina A da

assumersi giornalmente è 250-400 equivalenti di retinolo (RE) per i bambini e 750 RE per gli adulti. I carotenoidi sono inoltre stati associati ad una riduzione dei rischi di malattie degenerative quali il cancro, malattie cardiovascolari, degenerazioni muscolari e formazione della cataratta. Inoltre sembrano in grado di inibire potenzialmente il morbo di Alzheimer. Le proprietà antiossidanti dei carotenoidi risultano molto spiccate, in particolare in quelli che presentano nella loro struttura molecolare nove o più doppi legami, che permettono loro di delocalizzare e dunque stabilizzare in maniera ottimale l'energia ricevuta dalle specie reattive.

### **Flavonoidi**

I flavonoidi sono una classe molto ampia di composti ed appartengono a loro volta al gruppo dei polifenoli. La caratteristica comune di questa classe di composti è il loro scheletro rappresentato da C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. I flavonoidi includono flavoni, flavonoli, antocianine, flavanoni, flavani, proantocianidine, catechine, isoflavoni ed altri gruppi minori. Nelle piante svolgono svariate funzioni, sono responsabili dei colori bianco, blu, viola e rosso di molti fiori e frutti, assorbono la dannosa radiazione UV-B, proteggono da erbivori e microrganismi. Ma oltre a queste importanti caratteristiche, presentano in genere anche attività antiossidante, con intensità variabile a seconda della struttura chimica. Diversi studi evidenziano inoltre un'azione anticarcinogenica dei flavonoidi, che sembrano in grado di inibire il tumore sia nelle fasi iniziali, sia durante il suo sviluppo successivo. Importanti composti in questo senso sembrano essere la quercetina, la genisteina, la daidzeina, le antocianine, e i polifenoli estratti dal tè.

Il contenuto di sostanze antiossidanti e bioattive in frutta e verdura può ridursi notevolmente a seguito di processi di preparazione, quali ad esempio la bollitura, la cottura a vapore o la scottatura (Porrini and Riso 2008; Volden et al., 2009). Le perdite maggiori, dovute a lisciviazione dei composti bioattivi nell'acqua di cottura, si registrano con la bollitura e la scottatura. La cottura a vapore invece ha effetti molto più limitati seppur non trascurabili. Ad esempio le perdite di glucosinolati, in diverse varietà di cavolfiore, sono in media rispettivamente del 55, 42 e 19%, per la bollitura, la scottatura e la cottura a vapore. Similmente

parametri quali il contenuto di fenoli totali, il contenuto di acido L-ascorbico, così come la capacità antiossidante (metodi FRAP e ORAC), diminuisce in maniera significativa in tutti i casi dopo trattamento con calore, ma in maniera più accentuata a seguito di bollitura (Volden et al., 2009). I carotenoidi alla stessa maniera vengono persi in discreta quantità, in particolar modo a seguito di processi di lavorazione dei cibi che implicano l'uso di alte temperature e lunghi tempi di trattamento. Questi processi provocano isomerizzazione, della trans provitamina A in cis-isomeri, anche se la causa principale di degradazione resta l'ossidazione enzimatica e non enzimatica (Dutta et al., 2005). La frigoconservazione e la surgelazione invece sembrano preservare quasi completamente il contenuto di carotenoidi, quando il prodotto è stato opportunamente scottato in precedenza, per inattivare gli enzimi responsabili dell'ossidazione (Dutta et al., 2005). Anche la cottura in forno a microonde come evidenziato da Barba et al. (2008) su patata, determina la perdita di importanti costituenti fenolici (acido protocatecuico, clorogenico, neo-clorogenico e criptoclorogenico e triptofano). In particolare le frequenze più elevate sono quelle responsabili delle maggiori perdite di questi composti.

Molte ricerche hanno messo in luce come il consumo quotidiano di frutta e verdura contribuisce a ridurre i rischi di insorgenza di certe malattie, quali cancro e malattie cardio- e cerebro-vascolari (Bergquist, 2006; Du et al., 2009). Per diverso tempo si è dibattuto se gli effetti benefici di frutta e verdura siano dovuti ai singoli composti, contenuti al loro interno. Allo scopo di dare risposte a questo quesito, si è proceduto all'isolamento dei vari costituenti e a test *in vitro* e *in vivo*. L'obiettivo di questa strategia riduzionista, era quello di individuare le singole sostanze bioattive che possono interagire con i processi biologici. Tuttavia recentemente sia il WHO nel 2003 che l'EFSA (2008) hanno affermato che i benefici di frutta e verdura non sono ascrivibili a singole sostanze bioattive o a miscele di esse, bensì ai cibi stessi tal quali.

Studi epidemiologici hanno evidenziato un forte legame tra l'uso di frutta e verdura e la riduzione del rischio di sviluppo di diversi tipi di cancro (Fahey et al., 2001; Boivin et al., 2009). Fino ad ora mancavano tuttavia indicazioni precise sull'efficacia specifica dei singoli frutti e ortaggi. Boivin et al. (2009) studiando

l'effetto di estratti di 34 ortaggi su 8 linee cellulari tumorali, hanno potuto riscontrare differenze molto significative all'interno del gruppo di ortaggi presi in considerazione. In particolare gli estratti ricavati da due famiglie botaniche, quella delle Brassicaceae e delle Alliaceae, hanno fornito i risultati più importanti. La capacità antiproliferativa su cellule tumorali di questi ortaggi è risultata notevole, raggiungendo non di rado percentuali del 95-100% su tutte le linee cellulari. Anche gli altri ortaggi testati hanno presentato una capacità antiproliferativa, sebbene molto inferiore, comunque di un certo rilievo. Le Brassicaceae sono ricche in glucosinolati. Questi composti conosciuti a lungo per la loro azione fungicida, battericida, nematocida e allelopatica, hanno attirato ultimamente l'attenzione grazie alla loro importante funzione preventiva nei confronti del cancro (Fahey et al., 2001).

## 2. PARTE SPERIMENTALE

## 2.1. OBBIETTIVI ED APPROCCIO SPERIMENTALE

L'obiettivo generale del lavoro sperimentale è stato quello di esaminare la possibilità di ridurre la concentrazione nutritiva in una coltura idroponica di lattuga allo scopo di contenere sia i rischi di accumulo di nitrati liberi nelle parti eduli sia l'impatto ambientale legato ai reflui nutritivi che inevitabilmente si associa alle colture fuori suolo, anche quelle a ciclo chiuso (dove è necessario, presto o tardi, scaricare le soluzioni nutritive).

Si è deciso di utilizzare la lattuga da taglio (*baby-leaf*) per la sua crescente importanza soprattutto come ortaggio destinato alla lavorazione di IV gamma.

La tecnica idroponica impiegata è stata il *floating system*, che rappresenta quella maggiormente diffusa per questo tipo di coltura. Risulta infatti particolarmente adatta, in quanto possiede diverse caratteristiche interessanti, tra cui i bassi costi di impianto e la facilità di gestione (v. capitolo 1.1.3).

Il primo esperimento, condotto in serra, è stato ripetuto in tre differenti stagioni nelle medesime condizioni sperimentali e utilizzando in tutti i casi due diverse cultivar: tarda primavera, estate e autunno. In particolare, sono state utilizzate tre soluzioni nutritive con diverso grado di concentrazione degli elementi nutritivi: concentrazione piena (in base alle indicazioni maggiormente ricorrenti in bibliografia) oppure ridotta al 75% e al 50%. Le varie determinazioni hanno considerato la produzione di biomassa, lo stato azotato (contenuto di azoto organico e nitrico) ed alcuni parametri qualitativi, quali il contenuto di clorofilla ed altri pigmenti e la capacità antiossidante.

Alla luce delle indicazioni ottenute dagli esperimenti di serra, si è deciso di investigare meglio la relazione tra accrescimento, disponibilità di azoto (nitrato) nel mezzo di crescita e efficienza di assimilazione (definita come rapporto tra organicazione e assorbimento radicale). Questi esperimenti sono stati condotti in camera climatica utilizzando piantine precedentemente allevate in serra. Uno degli obiettivi di questo lavoro è stato anche quello di modellizzare l'assorbimento di nitrato in funzione della concentrazione esterna di questo ione utilizzando l'equazione di Michaelis-Menten. Per questo abbiamo provveduto alla realizzazione di alcune prove preliminari, per saggiare un sistema di coltivazione



*floating* a volume ridotto. Successivamente è stata condotto l'esperimento vero e proprio allevando le piante delle due cultivar con la tecnica cosiddetta della “*depletion*”, cioè lasciando progressivamente diminuire la concentrazione esterna degli elementi nutritivi.

## 2.2. MATERIALI E METODI

Le prove sono state condotte presso il Dipartimento di Biologia delle Piante Agrarie, della Facoltà di Agraria dell'Università di Pisa, sezione Orticoltura e Floricoltura, via delle Piagge, 23 (PI), Lat. 43° 42' 15'' N, Long. 10° 25' 38'' E. La coltivazione è avvenuta per la prima serie di esperimenti all'interno di una serra in ferro e vetro, mentre per la seconda serie è avvenuta in serra per i primi giorni e successivamente in cella climatica (vedi paragrafo 2.1.2). La prima serie di esperimenti si è svolta nei seguenti periodi (data di semina e raccolta rispettivamente):

- I prova → 22 maggio – 20 giugno 2007
- II prova → 26 giugno – 24 luglio 2007
- III prova → 21 settembre – 19 ottobre 2007

La seconda serie di esperimenti, di cui i primi due di messa a punto, si sono svolti nei seguenti periodi (data di inizio e fine prova rispettivamente):

- I<sub>b</sub> prova → 20 giugno – 21 giugno 2007\*
- II<sub>b</sub> prova → 20 luglio – 24 luglio 2007\*
- III<sub>b</sub> prova → 19 maggio – 27 maggio 2008\*\*

\* condotti in laboratorio, \*\* condotto in camera climatica.

### **Materiale vegetale**

La specie utilizzata in entrambe le serie di esperimenti è stata la *Lactuca sativa* L. varietà *crispa*, appartenente alla categoria delle lattughe da taglio. In tutte le prove sono state impiegate due *cultivar*: la Green Salad Bowl [GSB] della ditta sementiera Gargini Sementi (SNC), con sede in via Cantore, 5 Lucca, Italy e la Lollo Rossa [LR] della Royal Sluis, marchio della compagnia Seminis, con sede a St. Luis, Missouri, USA.

### **Condizioni climatiche**

Nella prima fase di sperimentazione, la lattuga una volta germinata in cella climatica, era coltivata per l'intero ciclo in serra. Le condizioni climatiche rilevate, sono sinteticamente riportate nella *Tab. 2.1*.

**Tab. 2.1.** Valori medi dei parametri climatici principali, registrati in serra, nel corso delle tre prove svolte nella prima fase di sperimentazione (2007).

	Radiaz.Globale	UR med	Tmed	Tmin	Tmax	GDD
Prova	(MJ m <sup>-2</sup> giorno <sup>-1</sup> )	(%)	(°C)	(°C)	(°C)	
I (Giugno)	9,3	90,3	23,3	18,6	29,2	518,1
II (Luglio)	9,8	72,1	25,7	19,5	32,5	579,0
III (Ottobre)	5,5	64,7	20,3	14,5	29,0	457,2

### Tecnica di allevamento

La lattuga era seminata direttamente su vassoi alveolati di polistirolo da 160 fori, riempiti con perlite. I semi posti in numero di circa 3 per foro, in maniera tale da avere una densità d'impianto di circa 2.500 piante per m<sup>2</sup>, erano ricoperti con un sottile strato di vermiculite.

Dopo irrigazione e trattamento con soluzione contenente un fungicida sistemico, specifico per il controllo degli Oomiceti del terreno e fogliari, Previcur della Bayer Crop Science, alla concentrazione di circa 1 ml/L, erano posti a germinare in cella climatica con temperatura diurna di 25°C e notturna di 20°C. Appena le plantule erano emerse, i vassoi erano spostati all'interno della serra e qui irrigati periodicamente. Ad una settimana dall'emergenza circa, quando le piantine possedevano un apparato radicale sufficientemente sviluppato, che cominciavano a fuoriuscire dalla base dei vassoi alveolati, questi ultimi erano posti all'interno delle vasche di coltivazione, a galleggiare sulla soluzione nutritiva (*Fig. 2.1*).

Le vasche contenevano 60 litri di soluzione nutritiva. Le soluzioni erano arieggiate tramite aria compressa, prodotta da un compressore e distribuita da una semplice condotta mobile, terminante con tubi immersi nella soluzione, portanti dei gorgogliatori, di quelli normalmente utilizzati negli acquari.



**Fig. 2.1.** Vasche di coltivazione riempite di soluzione nutritiva con vassoi alveolati posti a galleggiare. È possibile notare le cornici bianche in film plastico, per evitare la formazione di alghe e in alto a sinistra la condotta mobile dell'aria.

### **Composizione delle soluzioni nutritive**

Le soluzioni nutritive impiegate sono state 3, una a concentrazione piena (100%), con concentrazione degli elementi nutritivi in linea con quelle più spesso rinvenute in bibliografia e due ridotte al 75 e 50% (*Tab. 2.2*). I valori della conducibilità elettrica (EC) variavano da 3,9 a 2,6 mScm<sup>-1</sup>, per le soluzioni più concentrate e meno concentrate rispettivamente. Il pH risultava alto (8-8,5) a causa della forte presenza di carbonati nell'acqua di pozzo impiegata. Era perciò necessaria una correzione per riportare il parametro a livelli considerati ottimali per lo sviluppo di queste colture (5,5-6,5). Erano impiegati dunque circa 15 ml di acido solforico per vasca per riportare il pH su valori accettabili.

**Tab. 2.2.** Concentrazione (mmoli/L) dei macronutrienti nelle tre soluzioni nutritive poste a confronto per la coltivazione di lattughino da taglio. La concentrazione totale dei microelementi era di 97; 72,75 e 48,5  $\mu\text{mol/L}$  nei tre trattamenti SN100, SN75 e SN50.

Nutriente	100% [SN100]	75% [SN75]	50% [SN50]
N- $\text{NO}_3^-$	7,00	5,25	3,50
N- $\text{NH}_4^-$	7,00	5,25	3,50
S- $\text{SO}_4^{--}$	2,50	1,87	1,25
P- $\text{H}_2\text{PO}_4^-$	1,25	0,94	0,63
K $^+$	10,0	7,50	5,00
Ca $^{2+}$	5,00	3,75	2,50
Mg $^{2+}$	1,60	1,20	0,80

### Conduzione dell'esperimento in cella climatica

La terza prova della seconda serie di esperimenti si è svolta all'interno di una cella climatica. Le piante sono cresciute per circa 20 giorni in serra, in *floating* nelle medesime condizioni di quelle della prima serie di prove, ossia in vasche da 60 l con soluzione 100%. Successivamente sono state trasferite in condizioni di temperatura e radiazione luminosa controllate, per gli 8 giorni di durata della prova. Erano previsti 4 replicati per ciascuna *cultivar*, ciascun costituito da 20 piantine su mini-vassoi di polistirolo, per una densità di circa 960 piante al metro quadro. I vassoi erano posti all'interno di vaschette della capacità di 1 L, con 800 ml di soluzione nutritiva (*Fig. 2.2 e Fig. 2.3*). La temperatura diurna era fissata a 25°C, mentre quella notturna a 20°C. L'illuminazione artificiale era effettuata con lampade al neon, accese dalle 7:00 alle 21:00; l'intensità radiativa (*Photosynthetic Photon Flux Density* o PPFD) diurna era di  $100 \pm 10 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ .



**Fig. 2.2.** A sinistra vaschetta per *floating* a volume ridotto, con vassoio alveolato da 20 fori e gorgogliatore, a destra rilievo giornaliero del peso delle vaschette.



**Fig. 2.3.** Panoramica delle piante nelle vaschette per *floating*, all'interno della cella climatica, al terzo giorno di prova.

La soluzione nutritiva in cui erano coltivate durante la coltivazione in cella climatica, era leggermente modificata, in particolare per quanto riguarda l'apporto di azoto, che veniva fornito solamente sottoforma di  $\text{NO}_3$  (Tab. 2.3).

**Tab. 2.3.** Concentrazione (mmoli/L) dei macronutrienti nella soluzione nutritiva. La concentrazione totale dei microelementi era di 97  $\mu\text{mol/L}$ .

Nutriente	mmol/L
N- $\text{NO}_3^-$	15
S- $\text{SO}_4^{--}$	2,5
P- $\text{H}_2\text{PO}_4^-$	1,0
K $^+$	1,0
Ca $^{2+}$	4,5
Mg $^{2+}$	1,0

#### 2.1.4. Determinazioni

Nel corso di tutte le prove effettuate, sia del primo che del secondo esperimento, è stata sempre determinata la biomassa fresca e secca prodotta al termine della prova. Durante le tre prove del primo esperimento sono state rilevate inoltre le concentrazioni della clorofilla *a* e *b*, dei carotenoidi, indice SPAD, antociani, azoto nitrico e organico nei tessuti, potere antiossidante (FRAP). Nel corso delle prove del secondo esperimento le determinazioni effettuate erano invece: peso giornaliero delle vaschette, e delle piante con rilievo distruttivo, contenuto di nitrati in soluzione e contenuto di azoto nitrico e organico nelle piante.

##### **Biomassa**

La determinazione comprendeva sia il rilievo della biomassa come sostanza fresca, sia come sostanza secca. La biomassa appena raccolta era rapidamente pesata, onde evitare eccessive perdite di acqua per traspirazione, su bilancia di precisione. Successivamente la sostanza fresca era essiccata, ponendo i campioni all'interno di buste di carta in stufa termoventilata a 70°C, fino allo stabilizzarsi del peso.

##### **Contenuto di clorofilla e carotenoidi e indice SPAD**

Per la misurazione delle clorofilla *a* e *b* e dei carotenoidi, i campioni di sostanza fresca fogliare sono stati trattati con metanolo al 99,9 %, utilizzando un rapporto di estrazione di 1:10 tra peso del campione e volume del solvente. Il campione è

stato mantenuto a +4 °C, al buio per 24 ore, per completare l'estrazione dei pigmenti. La determinazione quantitativa tramite spettrofotometro è avvenuta immediatamente dopo l'estrazione (Fig. 2.4). L'assorbanza è stata misurata alle lunghezze d'onda di 665,2 nm e 652,4 nm per la clorofilla *a* e la clorofilla *b* rispettivamente e a 470 nm per i carotenoidi. Il contenuto di clorofilla e carotenoidi è stato calcolato mediante le formule di Linchtenthaler (1987) ed espresso come mg/g di peso fresco. Il contenuto di clorofilla totale risulta dalla semplice somma della clorofilla *a* e *b*.

La colorazione delle foglie è stata determinata anche come indice SPAD, tramite il Minolta SPAD 502 Chlorophyll-meter, strumento portatile, che permette la misurazione in maniera non distruttiva (Fig. 2.4) (Wang et al., 2005)



**Fig. 2.4.** A sinistra Shimadzu UV-1201, spettrofotometro UV-Vis, impiegato per varie determinazioni. A destra Minolta SPAD 502 Chlorophyll-meter, usato per la misurazione dell'indice SPAD.

### Antociani

Il contenuto di antociani è stato determinato attraverso lettura spettrofotometrica diretta su estratto idralcolico. Al campione di 50 mg di sostanza fresca, sono stati aggiunti 5 ml di metanolo e 1,37 ml di acido cloridrico N/10. I campioni sono stati lasciati a riposare per 24 ore, al buio, a +4°C. L'estratto è stato poi misurato allo spettrofotometro a 535 nm. La concentrazione di antociani, espressa come mg di equivalenti di cianidina-3-glucoside per g peso fresco, è stata calcolata in accordo a Kho et al. (1977).



### **Azoto organico e nitrico**

Il contenuto di azoto ridotto (organico e ammosciale) è stato determinato con il metodo Kjeldahl. Il metodo Kjeldahl è un metodo analitico messo a punto dal chimico danese Johan Kjeldahl, alla fine del 1800, che permette di determinare il contenuto in azoto organico di matrici organiche ed inorganiche. I passaggi fondamentali di questo metodo sono tre: digestione del campione, distillazione, titolazione. La distillazione di 100 mg (peso secco) di campione è avvenuta in tubi di vetro da 100 ml, in ambiente fortemente acido; sono stati aggiunti al campione 6 ml di acido fosfosolforico e una compressa di catalizzatore al selenio. I tubi sono stati posti nell'apposito distillatore e distillati sotto cappa alla temperatura di 370 °C per 15'. Durante questa fase si ha la rottura dei complessi legami della sostanza organica e la liberazione dell'azoto sottoforma di ammonio ( $\text{NH}_4^+$ ). Dopo che i campioni si erano raffreddati si è effettuata la distillazione attraverso l'apparecchio KJELDAHL-TECATOR, in presenza di idrossido di sodio al 40% in corrente di vapore, così da liberare l'ammonio, trasformandolo in ammoniaca ( $\text{NH}_3$ ). L'ammoniaca è stata raccolta in una beuta contenente 25 ml della soluzione indicatrice, costituita da acido borico e due indicatori (verde di bromocresolo e rosso di metile), che vira dal rosso al verde con l'innalzamento del pH, dovuto all'arrivo dell'ammoniaca. Seguiva poi una titolazione dell'ammoniaca, su piastra magnetica, con acido cloridrico N/10, mediante una buretta auto-azzerante, fino al punto di viraggio dal verde al grigio (Lotti and Galoppini, 1980).

Il contenuto di nitrati sia nelle soluzioni nutritive che nelle piante è stato determinato tramite misurazione spettrofotometrica, usando il metodo dell'acido salicil-solforico in volume ridotto. Per l'analisi nelle soluzioni, sono stati prelevati 70 µl e posti in una provetta da 10 ml. Al campione sono stati aggiunti 300 µl di acido salicil-solforico, al 5% di acido salicilico, agitando la provetta sull'apposito agitatore. Lentamente sono stati aggiunti 10 ml di NaOH 1,5 N ed è stata agitata di nuovo la provetta. I campioni sono stati poi fatti raffreddare a temperatura ambiente per qualche minuto e quindi misurati allo spettrofotometro ad una lunghezza d'onda di 410 nm (Cataldo et al., 1975). Il contenuto di nitrati è stato determinato, realizzando precedentemente una curva di calibrazione tramite 7

soluzioni (standard) contenenti  $\text{KNO}_3$  alle concentrazioni di 0; 1,29; 2,58; 5,161; 7,741; 10,321 e 16,127 mM. Per la determinazione dei nitrati nei tessuti vegetali, sono stati pesati 100 mg di sostanza secca, finemente tritata per mezzo di un frullatore. I nitrati del campione sono stati estratti per due ore in acqua distillata (rapporto di estrazione di 1:100, peso:volume), su agitatore orbitale a temperatura ambiente. Ciascun estratto è stato filtrato e centrifugato a 4.000 rpm per 15'. Con il surnatante raccolto, si è poi seguita la stessa procedura della soluzione nutritiva, sopra riportata.

#### **Capacità antiossidante (FRAP test)**

La capacità antiossidante è stata determinata tramite il metodo FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) (Benzie and Strain, 1996). La determinazione prevede l'uso di tre soluzioni che miscelate vanno a costituire il reagente o soluzione FRAP: il *buffer* acetato 300 mM, a pH 3,6, preparato con 3,1 g di acetato di sodio idrato e 16 ml di acido acetico, il tutto portato poi a volume (1L) con acqua distillata;  $\text{FeCl}_3$  2 mM; TPTZ 1 mM. Per preparare 10 ml di reagente occorre sciogliere 100  $\mu\text{l}$  di TPTZ e 100  $\mu\text{l}$  di  $\text{FeCl}_3$  in 9,6 ml di *buffer*. Un campione di 4 g di tessuto congelato, è pesato e macinato in 10 ml di metanolo. Il tutto è centrifugato a 15.000 rpm per 20' a 20 °C. Si sono recuperati 100  $\mu\text{l}$  di surnatante e si sono uniti a 900  $\mu\text{l}$  di FRAP, agitando e tenendo poi a riposo per 4 min a temperatura ambiente; quindi è stata effettuata la lettura a 593 nm. La concentrazione di  $\mu\text{mol}$  di Fe equivalenti è stata calcolata previa curva di taratura con una soluzione di solfato ferroso (0,25 – 10 mmoli/L).

#### **2.1.5. Analisi statistica**

Su i dati della prima prova è stata effettuata l'analisi della varianza (ANOVA) a 3 vie considerando come variabili la cultivar, la concentrazione di elementi nutritivi e la stagione; le differenze tra i trattamenti erano analizzati tramite il post-test di Fisher, della minima differenza significativa (LSD) ( $P < 0,05$ ). I dati sono riportati come valori medi, eventualmente separati con una lettera diversa nel caso di differenze significative. Con gli stessi dati, è stata effettuata anche un'analisi della correlazione tra i vari parametri rivelati.

## 2.3. RISULTATI E DISCUSSIONE

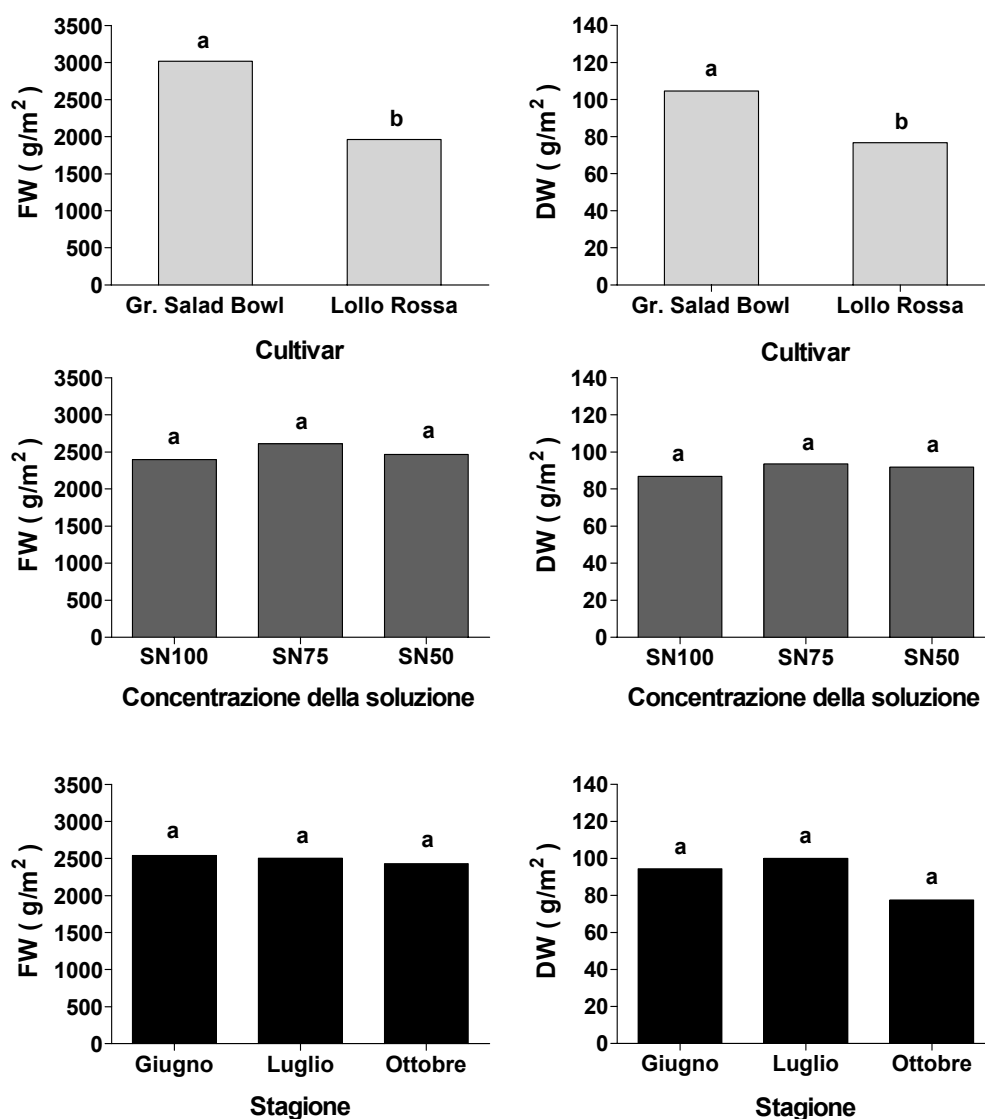
### 2.3.1. Primo esperimento

Di seguito sono riportati i dati rilevati durante le 3 prove del primo esperimento.

I risultati mostravano per quanto riguarda la produzione di biomassa fresca (FW), una consistente differenza tra i due genotipi (*Fig. 2.5 sinistra*). In particolare la *cultivar* GSB sulle 3 stagioni di coltivazione aveva prodotto in media 3018,68 g al m<sup>2</sup> mentre LR si era attestata su valori di 1962,67 g al m<sup>2</sup>. Non si erano invece apprezzate differenze di produzione legata alla stagione e neppure dovute alla concentrazione della soluzione nutritiva. Stesso comportamento si era registrato per la produzione di biomassa secca (DW) dove l'unica differenza significativa era dovuta alla *cultivar*, con GSB che raggiungeva produzioni di 104,57 g al m<sup>2</sup> e la LR che invece si fermava a 76,77 g al m<sup>2</sup> (*Fig. 2.5 destra*).

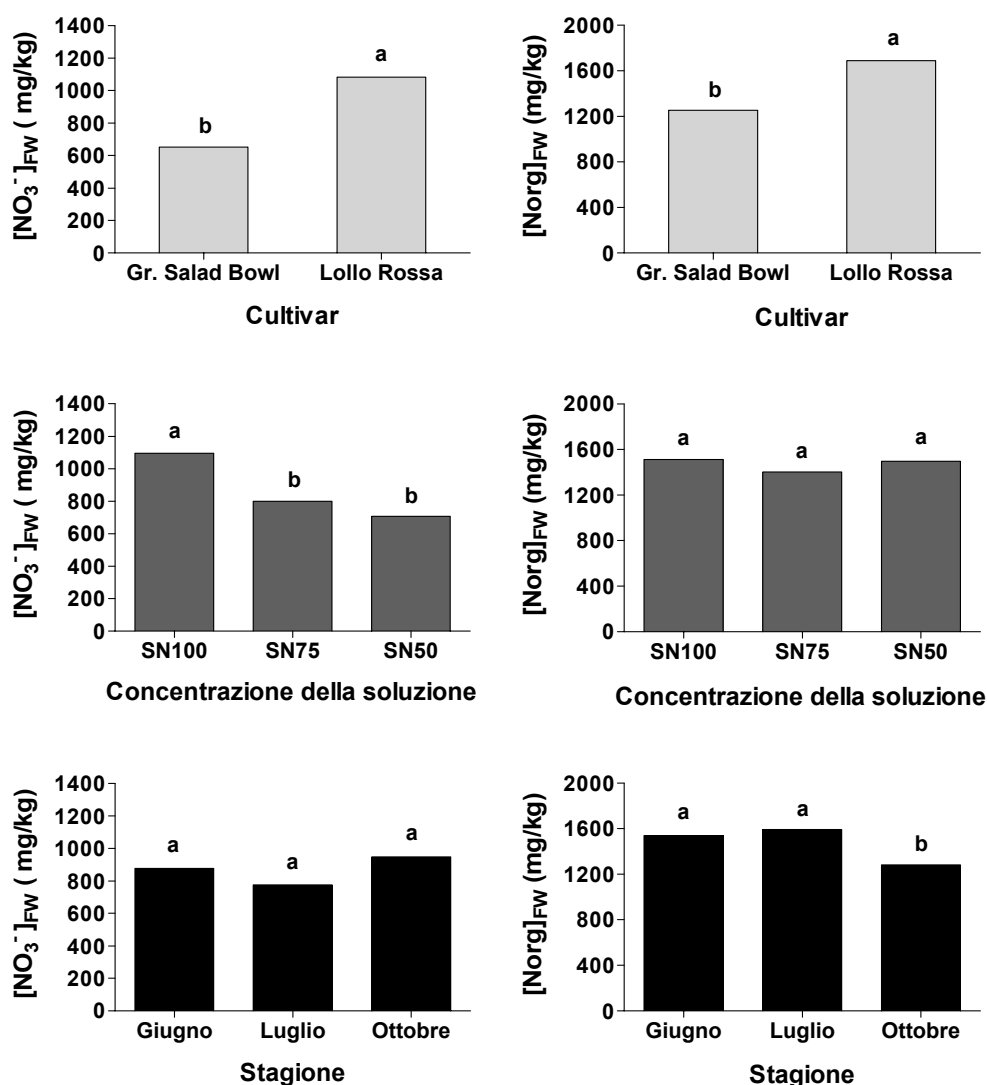
Per quanto riguarda il contenuto di nitrati nei tessuti freschi ([NO<sub>3</sub><sup>-</sup>]<sub>FW</sub>) si era registrata una differenza significativa per la *cultivar* e per la concentrazione della soluzione (*Fig. 2.6 sinistra*). LR aveva in media un quantitativo di nitrati nei tessuti più elevato con valori di 1082 mg/kg FW contro le 652 mg/kg FW di GSB. La concentrazione della soluzione nutritiva risultava altrettanto incisiva su questo parametro. La soluzione con concentrazione piena (SN100) portava a produzioni con contenuto medio di nitrati di 1095 mg/kg FW, e dunque significativamente più elevati rispetto a quelle ottenute in concentrazione ridotte (SN75 e SN50). In queste ultime infatti il contenuto di nitrati si attestava su valori di 800 e 706 mg/kg FW rispettivamente.

Il contenuto di azoto organico sulla sostanza fresca era invece influenzato in maniera statisticamente significativa dalla *cultivar* e dalla stagione (*Fig. 2.6 destra*). La *cultivar* con maggior contenuto di azoto organico era la LR con valori di 1689 mg/kg FW rispetto a GSB con 1254 mg/kg FW. La stagione autunnale si differenziava dalle altre due per un contenuto inferiore, pari a 1280 mg/kg FW, mentre la stagione primaverile e quella estiva avevano valori di 1540 mg/kg FW e mg/kg FW, rispettivamente.



Fonte di variabilità	Peso fresco (FW)	Peso secco (DW)
A (cv)	***	***
B (concentrazione)	ns	ns
C (stagione)	ns	***
A x B	ns	ns
A x C	***	***
B x C	ns	ns
A x B x C	ns	ns

**Fig. 2.5.** Produzione di biomassa fresca o secca in una coltura di lattuga da taglio in *floating system*: effetto medio della cultivar, della concentrazione nutritiva e della stagione di coltivazione. I risultati dell'ANOVA sono riportati nello specchio: \*\*\*,  $p \leq 0,0001$ ; \*\*,  $p \leq 0,001$ ; \*,  $p \leq 0,05$ ; ns, non significativa.



Fonte di variabilità	Nitrati sulla FW ( $[NO_3^-]_{FW}$ )	Azoto org. sulla FW ( $[N_{org}]_{FW}$ )
A (cv)	***	***
B (concentrazione)	***	ns
C (stagione)	*	***
A x B	***	ns
A x C	ns	***
B x C	ss	ns
A x B x C	*	ns

**Fig. 2.6.** Contenuto di nitrati e azoto organico nei tessuti in una coltura di lattuga da taglio in *floating system*: effetto medio della cultivar, della concentrazione della soluzione nutritiva e della stagione di coltivazione. I risultati dell'ANOVA sono riportati nello specchietto: \*\*\*,  $p \leq 0,0001$ , \*\*,  $p \leq 0,001$ , \*,  $p \leq 0,05$ , ns, non significativa.

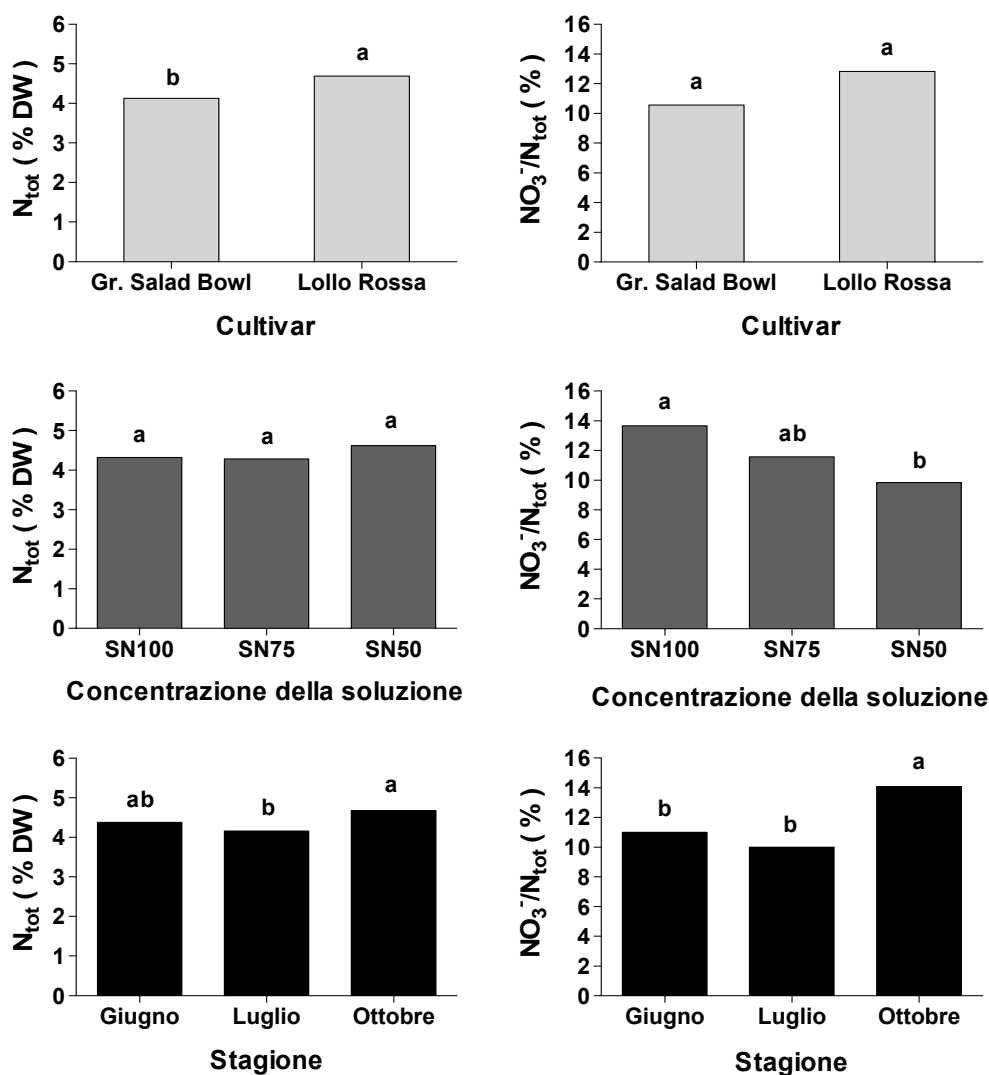
Il contenuto di azoto totale sulla sostanza secca ( $N_{tot}$ ) risultava significativamente diverso tra le cultivar e tra le stagioni (*Fig. 2.7 sinistra*). In particolare la *cultivar* LR in media aveva un contenuto di azoto totale pari a 4,69 %, rispetto a GSB dove il valore si attestava su 4,13 %. Per quanto riguarda la stagione, quella estiva e quella autunnale differivano dal punto di vista statistico con valori di 4,16 % e 4,68% rispettivamente, mentre la stagione primaverile aveva un valore intermedio di 4,38%, statisticamente non differente dagli altri due periodi. Nessuna differenza statisticamente significativa era invece dovuta alle diverse concentrazioni della soluzione nutritiva.

Il rapporto tra l'azoto nitrico e l'azoto totale ( $NO_3^-/N_{tot}$ ) mostrava differenze legate alla concentrazione della soluzione e alla stagione (*Fig. 2.7 destra*). La soluzione SN100 presentava il valore più elevato, pari a 13,67%, e differiva significativamente dalla SN50 che aveva un valore di 9,83%. La SN75 con valore intermedio di 11,58% non risultava statisticamente differente dalle altre due soluzioni. La stagione autunnale presentava il valore più elevato del rapporto tra azoto nitrico e totale pari a 14,08%, statisticamente diverso dalle altre due stagioni che avevano valori di 11,00% e 10,00% per la stagione primaverile ed estiva.

Il contenuto di clorofilla totale ( $Chl_{tot}$ ) risultava diverso in funzione della *cultivar* e della stagione (*Fig. 2.8 sinistra*). La *cultivar* GSB presentava il valore maggiore pari a 1,25 mg su g di tessuto fresco, rispetto a LR con un valore di 1,03 mg su g di tessuto fresco. Le stagioni risultavano tutte statisticamente diverse tra loro, con il valore maggiore registrato in quella estiva, pari a 1,32 mg/g, seguita da quella primaverile con 1,14 mg/g e successivamente da quella autunnale con 0,97 mg/g.

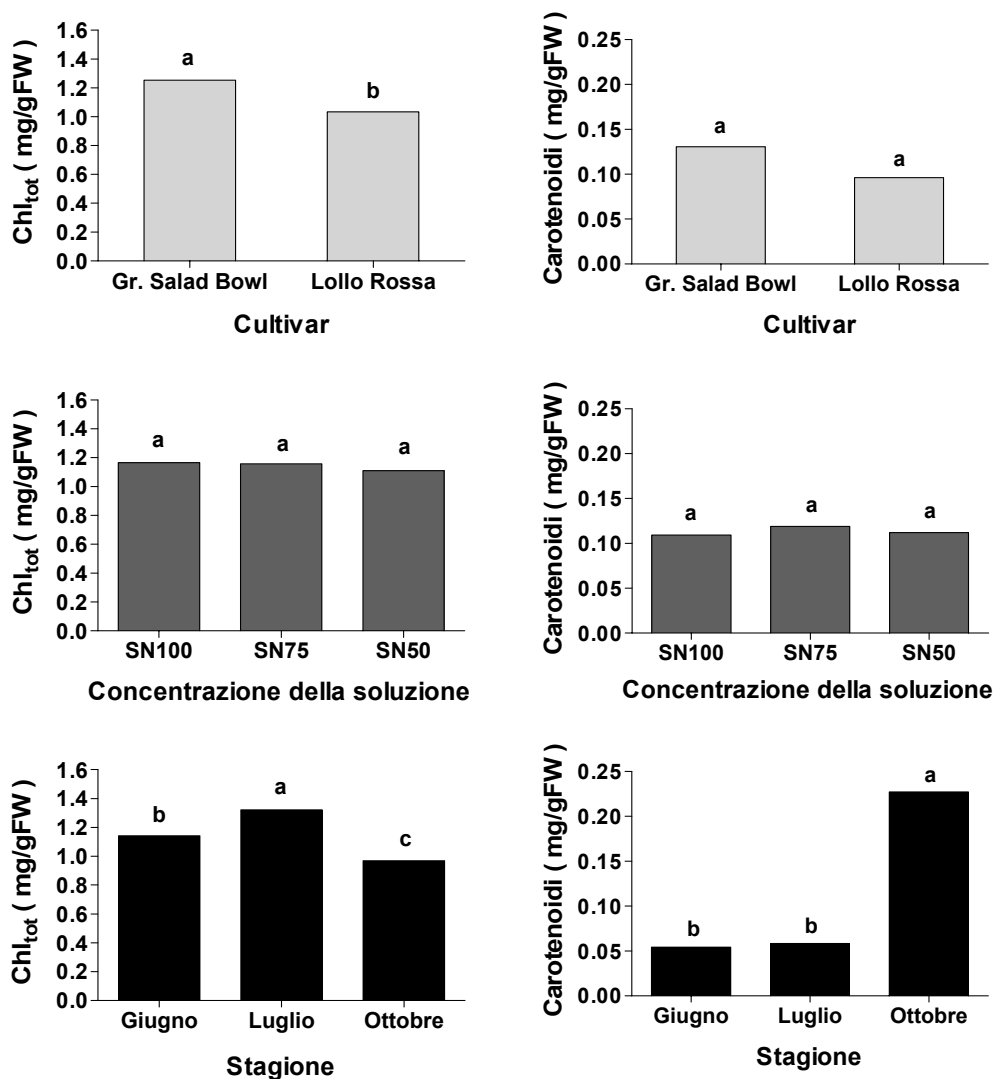
Il contenuto di carotenoidi appariva differente solo per influenza della stagione (*Fig. 2.8 destra*). In particolare la stagione autunnale è quella che fa registrare il valore più elevato, pari a 0,227 mg su g di tessuto fresco, mentre la stagione primaverile ed estiva si attestano rispettivamente su valori di 0,054 mg/g e 0,059 mg/g.

Il valore dell'indice SPAD risulta, come i carotenoidi, diverso solo a seguito della stagione, con valori più elevati pari a 22,55 nella stagione autunnale.



Fonte di variabilità	Azoto totale ( $N_{tot}$ )	Az. nitrico su totale ( $NO_3^-/N_{tot}$ )
A (cv)	***	***
B (concentrazione)	**	***
C (stagione)	***	***
A x B	**	***
A x C	Ns	**
B x C	Ns	ns
A x B x C	Ns	*

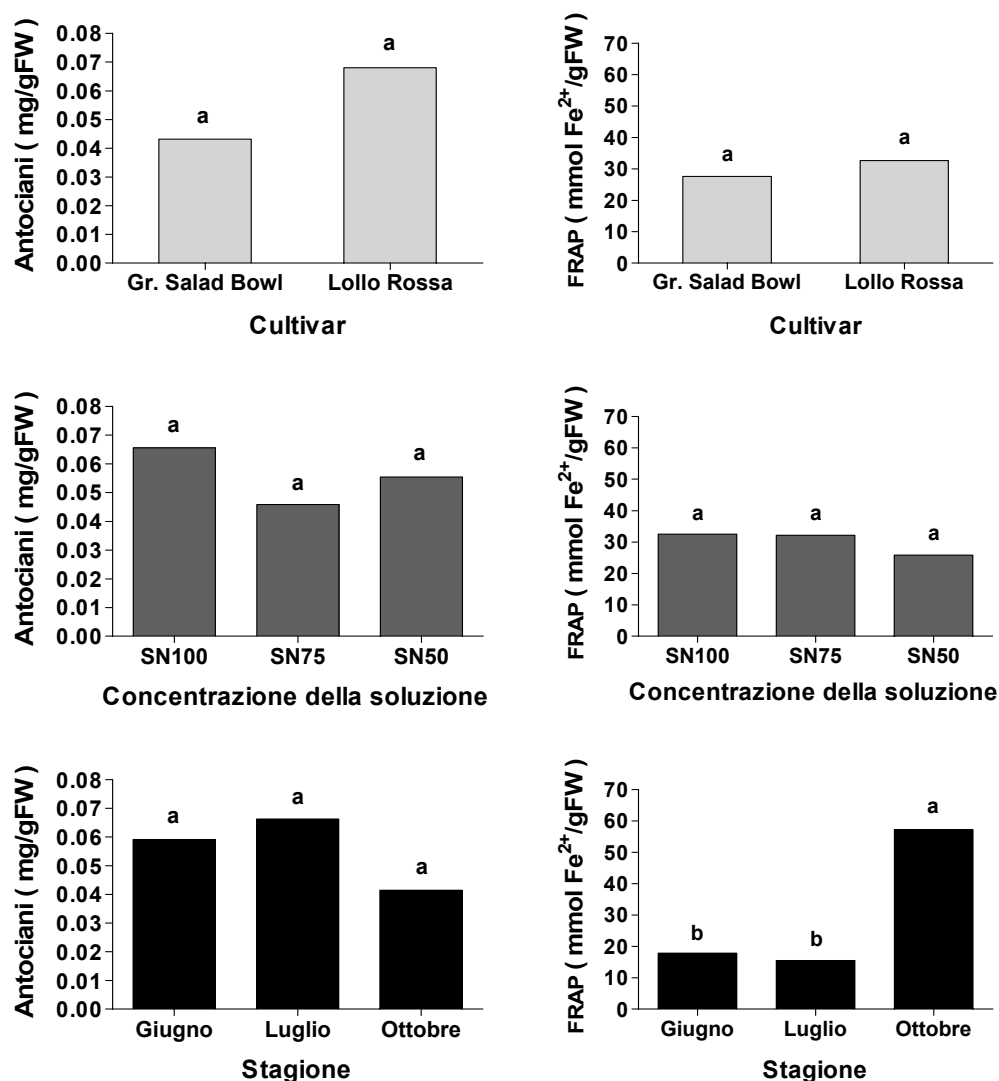
**Fig. 2.7.** Azoto totale e rapporto tra azoto nitrico e totale in una coltura di lattuga da taglio in *floating system*: effetto medio della cultivar, della concentrazione della soluzione nutritiva e della stagione di coltivazione. I risultati dell'ANOVA sono riportati nello specchio: \*\*\*,  $p \leq 0,0001$ , \*\*,  $p \leq 0,001$ , \*,  $p \leq 0,05$ , ns, non significativa.



Fonte di variabilità	Clorofilla totale $a+b$ (Chl <sub>tot</sub> )	Carotenoidi
A (cv)	***	***
B (concentrazione)	ns	ns
C (stagione)	***	***
A x B	*	**
A x C	ns	***
B x C	ns	*
A x B x C	ns	*

**Fig. 2.8.** Contenuto di clorofilla totale e carotenoidi nei tessuti di lattuga da taglio coltivata in *floating system*: effetto medio della cultivar, della concentrazione della soluzione nutritiva e della stagione di coltivazione. I risultati dell'ANOVA sono riportati nello specchio: \*\*\*,  $p \leq 0,0001$ , \*\*,  $p \leq 0,001$ , \*,  $p \leq 0,05$ , ns, non significativa.





Fonte di variabilità	Antociani	Potere antiossidante - FRAP
A (cv)	*	***
B (concentrazione)	ns	***
C (stagione)	ns	***
A x B	ns	**
A x C	ns	***
B x C	*	***
A x B x C	*	**

**Fig. 2.9.** Contenuto di antociani e potere antiossidante (FRAP test) in una coltura di lattuga da taglio il *floating system*: effetto medio della cultivar, della concentrazione della soluzione nutritiva e della stagione di coltivazione. I risultati dell'ANOVA sono riportati nello specchio: \*\*\*,  $p \leq 0,0001$ , \*\*,  $p \leq 0,001$ , \*,  $p \leq 0,05$ , ns, non significativa.

Il contenuto di antociani che oscillano tra valori di 0,043 mg su g di tessuto fresco e 0,068 mg su g di tessuto fresco, non appaiono mai statisticamente differenti (*Fig. 2.9 sinistra*).

Il potere antiossidante determinato con il metodo FRAP risulta statisticamente diverso per effetto della stagione (*Fig. 2.9 destra*). La stagione autunnale presenta il valore maggiore, di 57,12 mmol di ferro ridotto per grammo di tessuto fresco. Mentre la stagione primaverile ed estiva presentavano valori di 17,84 mmol  $\text{Fe}^{2+}$ /gFW e 15,86 mmol  $\text{Fe}^{2+}$ /gFW, rispettivamente.

L'analisi delle correlazioni esistenti tra i vari parametri determinati, mette in evidenza la presenza di alcune correlazioni particolarmente significative (*Tab. 2.4*). In particolare le correlazioni tra il contenuto di azoto nitrico nei tessuti e il rapporto tra azoto nitrico e totale, tra contenuto di azoto nitrico nei tessuti e contenuto di clorofilla e quella tra contenuto di carotenoidi e potere antiossidante.

**Tab. 2.4.** Correlazione tra i valori medi dei vari parametri, determinati nel corso delle tre prove della prima fase di sperimentazione. Il primo numero rappresenta il coefficiente di correlazione, il secondo il valore del p.

	FW m <sup>2</sup>	DW m <sup>2</sup>	NO <sub>3</sub>	Norg	Ntot % SS	NO <sub>3</sub> / Ntot	Chl tot	Car	SPAD	Ant	FRAP
FW m <sup>2</sup>		- -	- -	-0.720 0.000	-0.462 0.005	- -	0.402 0.015	- -	- -	- -	- -
DW m <sup>2</sup>			- -	-0.471 0.004	-0.557 0.000	- -	0.518 0.001	- -	- -	- -	- -
NO <sub>3</sub>				0.401 0.015	- -	0.858 0.000	-0.553 0.001	- -	- -	0.480 0.003	- -
Norg					- -	- -	- -	-0.506 0.002	0.585 0.000	0.424 0.010	-0.400 0.016
Ntot % SS						- -	-0.586 0.000	- -	- -	- -	0.373 0.025
NO <sub>3</sub> / Ntot							-0.584 0.000	- -	-0.502 0.002	- -	0.619 0.000
Chl tot								-0.355 0.034	0.421 0.011	- -	-0.551 0.001
Car									-0.662 0.000	- -	0.840 0.000
SPAD										- -	-0.770 0.000
Ant											- -

Quindi, le prove hanno messo in luce un consistente effetto del genotipo sia sulla produzione di biomassa fresca e secca che sulle caratteristiche qualitative della produzione (contenuto di nitrati, e clorofilla), nonché su alcuni parametri fisiologici quali il contenuto di azoto organico e di azoto totale. In particolare, GSB faceva registrare maggiori produzioni di biomassa fresca e secca e del contenuto di clorofilla. In LR invece risultavano maggiori la concentrazione di nitrati, sebbene ancora ben al disotto della soglia indicata dalla normativa europea (Reg. [CE] n. 1881/2006), che stabilisce per lattuga, per la prova primaverile ed estiva limiti di 3500 mg/kg FW e per quella autunnale di 4500 mg/kg FW. Anche i contenuti di azoto organico e totale erano statisticamente maggiori in LR.

L'effetto della concentrazione della soluzione nutritiva invece mostrava influenza solamente sul contenuto di nitrati nei tessuti e sul rapporto tra azoto nitrico e totale. Alle concentrazioni ridotte dei nutrienti il contenuto di azoto appariva inferiore rispetto alla concentrazione piena (SN100). Questo sembra normale visto che è noto come la crescita in condizioni di carenze di azoto porta ad una maggiore assimilazione endogena di nitrato e di conseguenza ad un decremento del suo accumulo nei tessuti (Ismande and Touraine, 1994). Questo è in linea con quanto recentemente osservato anche da Cocetta et al. (2008) in piante di spinacio allevate in *floating*, dove le concentrazioni maggiori aumentavano il contenuto di nitrati. Nel nostro studio, però, le concentrazioni inferiori non sembravano interferire negativamente né sugli aspetti quantitativi né su quelli qualitativi della produzione. La ragione principale sembra risiedere, come affermato da Cocetta et al. (2008), nel fatto che la coltivazione degli ortaggi da foglia (*baby leaf*) prevede un periodo di coltivazione in genere molto breve (20-40 giorni dalla semina alla raccolta). Per questo i fabbisogni nutritivi delle piante sono limitati e le concentrazioni massime, come suggerito da altri autori quali Vernieri et al. (2006) e Alberici et al. (2008), possono essere ridotte fino al 75% senza sostanziali riduzioni della resa, ed in certi casi con incrementi qualitativi, legati alla capacità antiossidante. I risultati ottenuti sembrano inoltre in accordo con quelli di Parente et al. (2002), i quali riferiscono come prove sull'effetto di differenti livelli di concimazione azotata, hanno evidenziato incremento della concentrazione di nitrati nei tessuti all'aumentare dei livelli di concimazione,

mentre le differenze nella resa non erano costanti. Inoltre, hanno notato una predisposizione da parte della tipologia “Lollo” a produrre meno e accumulare più nitrati a parità di concimazione.

La stagione, infine, ha influenzato diversi parametri. In particolare, in autunno sono stati registrati valori di azoto organico inferiori alle altre due stagioni, mentre il contenuto di azoto totale, il rapporto tra azoto nitrico e azoto totale, contenuto di carotenoidi e potere antiossidante sono risultati più alti. Gli antociani risultavano sempre in concentrazioni molto basse, in quanto questa specie tende a non accumularne grandi quantitativi (Hodges, 1999). Il contenuto di carotenoidi, invece, è stato elevato, specialmente nel periodo autunnale, probabilmente a causa delle minori temperature registrate in serra rispetto alle altre due stagioni. È noto l'effetto negativo delle alte temperature sulla sintesi dei carotenoidi, come osservato ad es. in pomodoro per il licopene, il pigmento rosso delle bacche (e.g. Brandt et al., 2005).

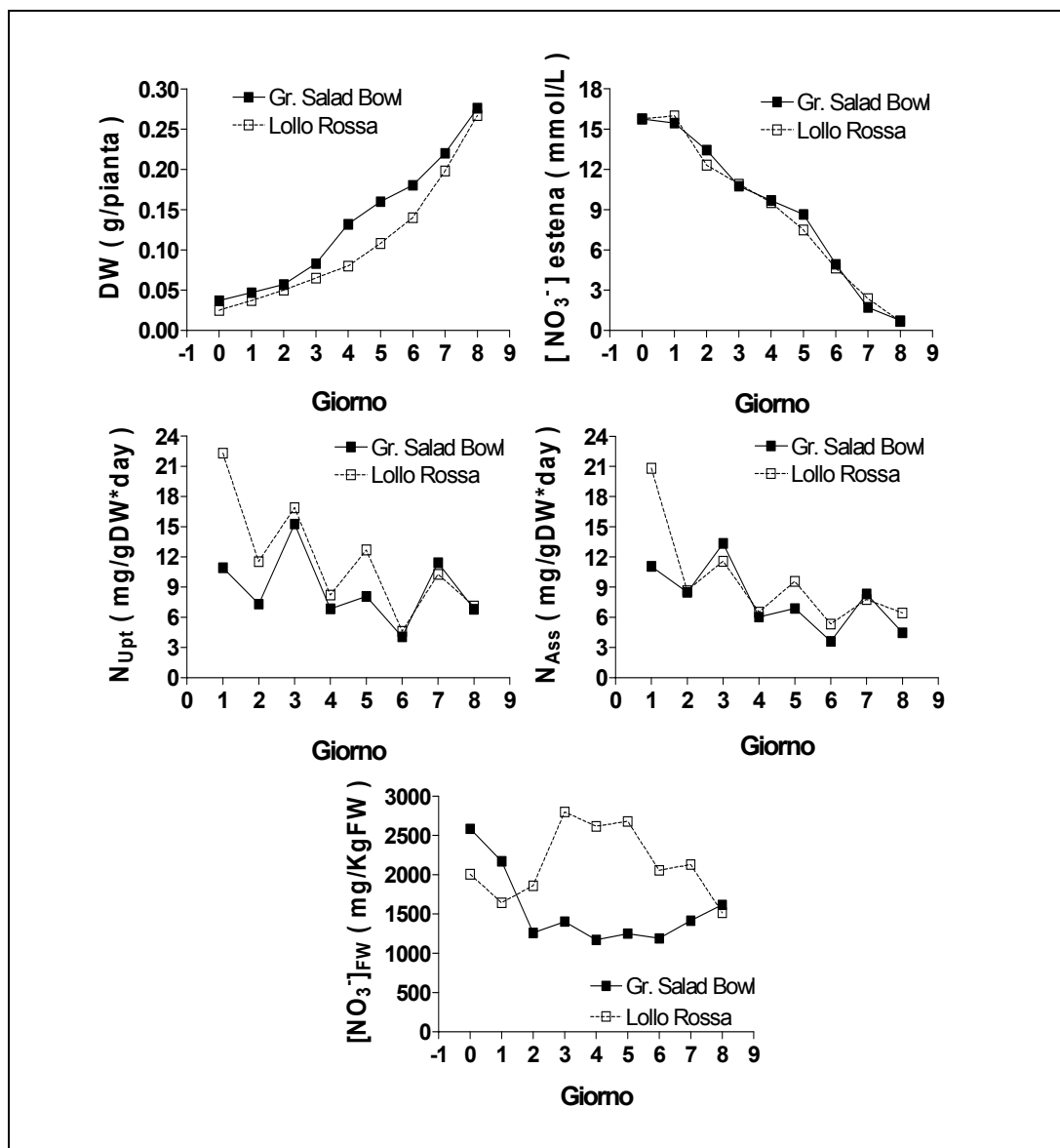
### 2.3.2. Secondo esperimento

Il secondo esperimento, ideato a seguito del diverso comportamento riscontrato tra le due *cultivar*, durante le prove in serra, per quanto riguarda l'accumulo di nitrati nei tessuti, è stato condotto per modellizzare sia l'assorbimento che l'assimilazione dell'azoto. In realtà, per il nostro studio è stato utilizzato un metodo (Kjeldhal) che non consente di differenziare tra l'azoto organico (N proteico o aminoacidico) e quello ammoniacale, pertanto i termini corretti sarebbe “riduzione” e “contenuto di azoto ridotto” invece di “assimilazione” e “contenuto di azoto organico”.

L'esperimento è stato condotto in camera climatica e le piante sono state allevate con la tecnica della *nutrient depletion*, che ha consentito di studiare la relazione tra la concentrazione esterna di azoto nitrico, l'assorbimento azoto e il contenuto di questo elemento nella sostanza secca delle foglie.

I dati relativi alla crescita e alla concentrazione di azoto organico e nitrico nelle piante sono riportati nelle Figg. 2.10, 2.11, 2.12. Una loro analisi evidenzia come il comportamento delle due *cultivar* risulta molto simile tra loro e che i tassi di

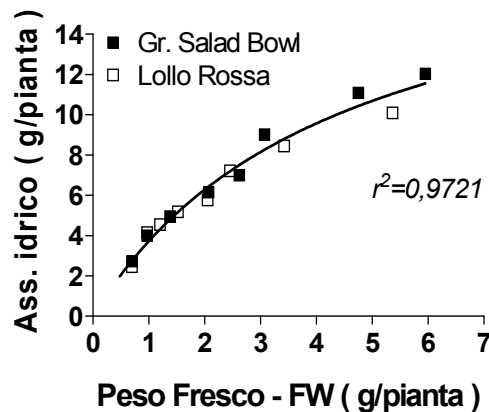
assorbimento e assimilazione di azoto ed il contenuto di nitrati erano assai variabili durante la prova. Durante la coltivazione, l'assorbimento di acqua è andato aumentando nel tempo ed è apparso correlato all'incremento della biomassa delle piante, come si osserva dalla Fig. 2.12.



**Fig. 2.10.** Evoluzione del peso secco della parte aerea, della concentrazione nella soluzione nutritiva dell'azoto nitrico, del tasso giornaliero di assorbimento e di assimilazione dell'azoto (calcolati sulla base delle analisi dei tessuti fogliari) e del contenuto di nitrati liberi, nelle piante di due *cultivar* di lattuga coltivate in idroponica in cella climatica per otto giorni. Valori medi di 4 replicati (ciascuno costituito da 1 pianta, nel caso del contenuto fogliare di azoto).

Due osservazioni appaiono interessanti ai fini della modellizzazione:

- 1) L'efficienza d'uso di azoto ( $NUE$ ), calcolata come rapporto tra l'incremento giornaliero di azoto ridotto (assimilato) e di azoto totale (quest'ultimo calcolato sia in base al decremento di  $N-NO_3^-$  sia in base alle analisi dei tessuti fogliari) dalle radici, per differenza tra due momenti, risultava relativamente costante, con valori medi di 0,85, e quindi sembrava non essere influenzato né dalla concentrazione esterna di azoto né della taglia della pianta (*Fig.2.12*);
- 2) La concentrazione di azoto nella biomassa secca ( $[N]_{DW}$ ) dipendeva sia dalla taglia delle piante ( $DW$ ), sia dalla concentrazione di nitrati nella soluzione nutritiva ( $[NO_3^-]_{EXT}$ ) (*Fig.2.12*).

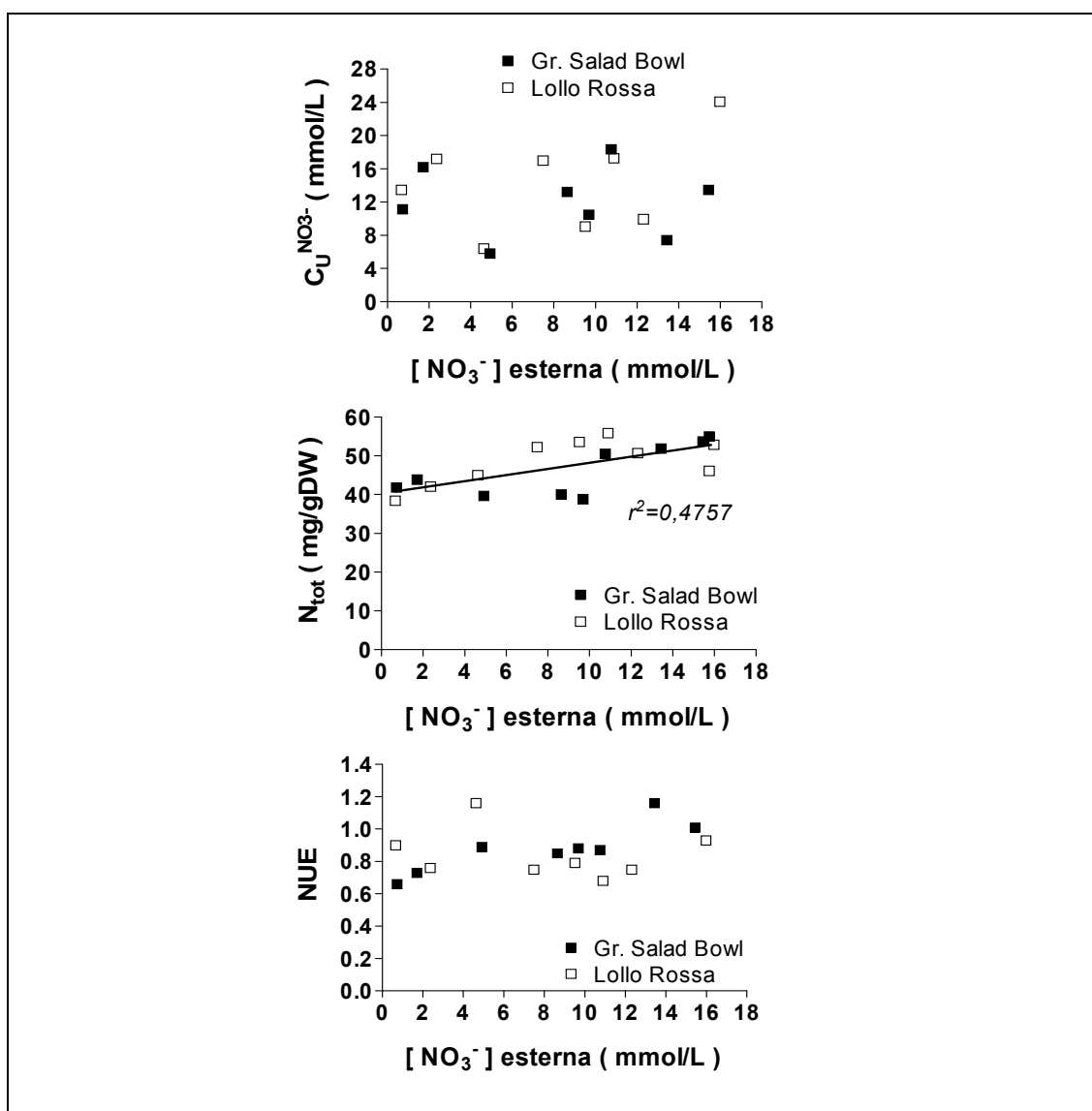


**Fig. 2.11.** Relazione tra assorbimento giornaliero di acqua e peso fresco della piante di lattuga coltivate in idroponica in cella climatica.

Per la modellizzazione della variazione del contenuto di azoto nella foglie delle piante di lattuga sono stati seguiti due approcci, utilizzando cioè due modelli diversi per l'assorbimento dell'azoto ( $N_{UPT}$ ).

Sulla base di  $N_{UPT}$  è stato calcolato il contenuto di azoto nelle foglie ( $N_{TOT}$ , mg/pianta) e la sua distribuzione tra forme ridotte ( $N_{ASS}$ ) e l'azoto nitrico accumulato verosimilmente nei succhi vacuolari ( $N_{NO3}$ ) in base all'assunto che l'azoto assorbito si rende disponibile per lo stoccaggio nei vacuoli (con funzione di riserva e/o osmoregolazione; Blom-Zandstra and Lampe, 1985) e/o per l'assimilazione (nel nostro caso il termine 'riduzione' sarebbe più adatto infatti il

nostro metodo analitico non distingueva l'azoto organico da quello ammoniacale).



**Fig. 2.12.** Concentrazione di assorbimento dell'azoto nitrico, contenuto totale di azoto sulla sostanza secca delle foglie e efficienza di uso dell'azoto (NUE; è il rapporto calcolato giornalmente tra l'incremento di azoto ridotto e l'assorbimento radicale di azoto, calcolati sulla base delle analisi chimiche dei tessuti fogliari).

Una rappresentazione schematica della modellizzazione è riportata nella Fig. 2.13. La seguente equazione è stata utilizzata per il calcolo di  $N_{TOT}$ , ovviamente usando il valore di  $NUE$  riportato in precedenza:

$$N_{TOT} = N_{ASS} + N_{STO} = N_{UPT} \cdot NUE + N_{UPT} \cdot (1 - NUE) \quad (\text{Eq. 1a})$$

$$N_{TOT} = N_{ASS} + N_{STO} = N_{UPT} \cdot 0.85 + N_{UPT} \cdot 0.15 \quad (\text{Eq. 1b})$$

Quindi, al giorno  $i$ , il valore di  $N_{TOT}$  sarà dato da:

$$\begin{aligned} N_{TOT} &= N_{TOT,i-1} + N_{ASS,i} + N_{NO3,I} = \\ &= N_{TOT,i-1} + N_{UPT} \cdot NUE + N_{UPT} \cdot (1 - NUE) \\ N_{TOT,i} &= N_{TOT,i-1} + N_{UPT,i} \cdot 0.85 + N_{UPT,i} \cdot 0.15 \end{aligned} \quad (\text{Eq. 1c})$$

Per quanto riguarda  $N_{UPT}$ , il primo modello utilizzato è costituito dall'equazione di Michaeli-Menten (Modello A) (Massa et al., 2008). Il modello proposto nel 1913 da Leonor Michaelis e Maud Menten, descrive la cinetica, ossia l'andamento della velocità di reazione, di enzimi non allosterici (*Fig. 2.12*). Il modello generale di M-M è rappresentato dalla seguente equazione:

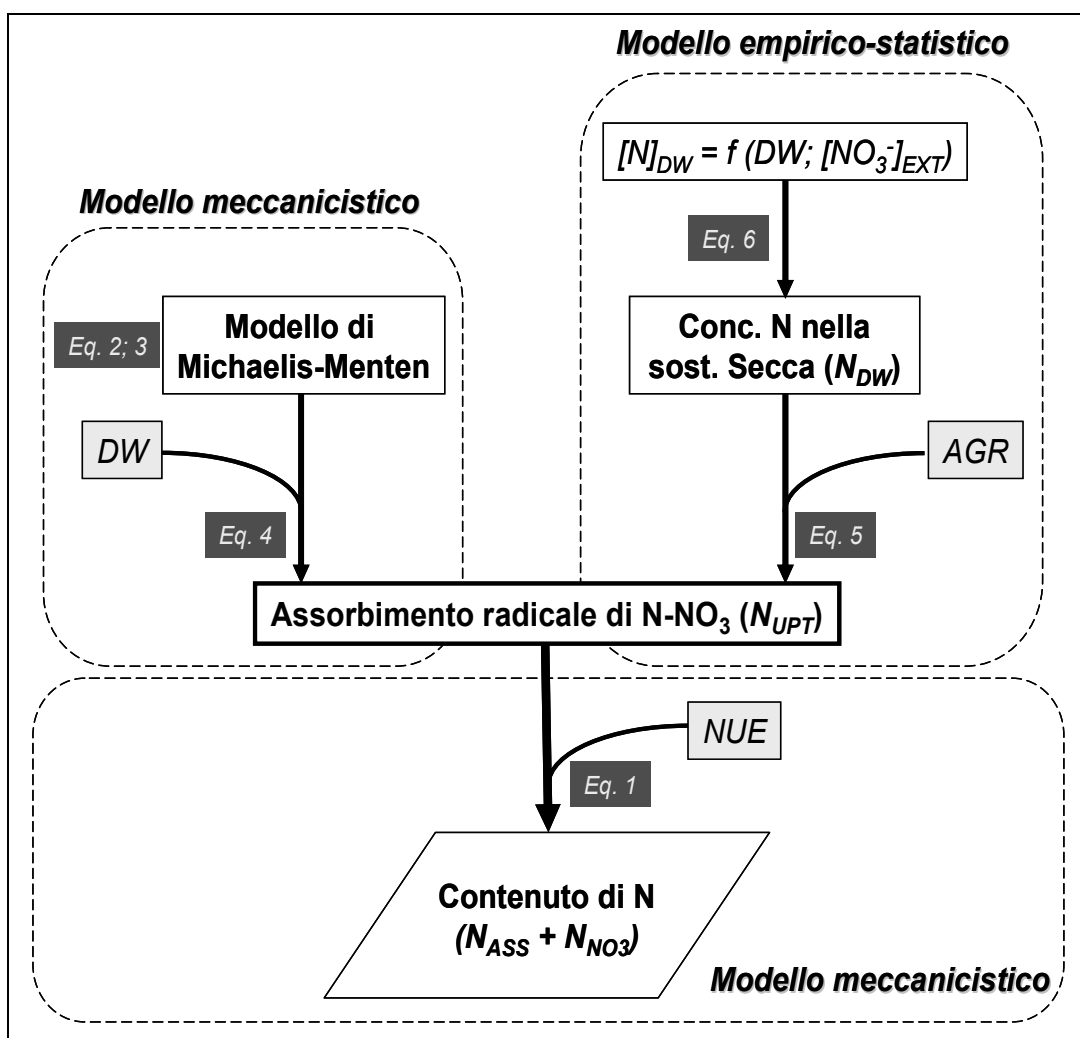
$$V = \frac{V_{max} C}{K_m + C} \quad (\text{Eq. 2})$$

dove  $V$  è la velocità di reazione enzimatica,  $V_{max}$  è il valore dell'asintoto, che la velocità raggiunge quando il substrato è a concentrazione infinita,  $K_m$  è una costante e rappresenta la concentrazione del substrato alla quale la velocità  $V=1/2V_{max}$  e  $C$  è la concentrazione del substrato.

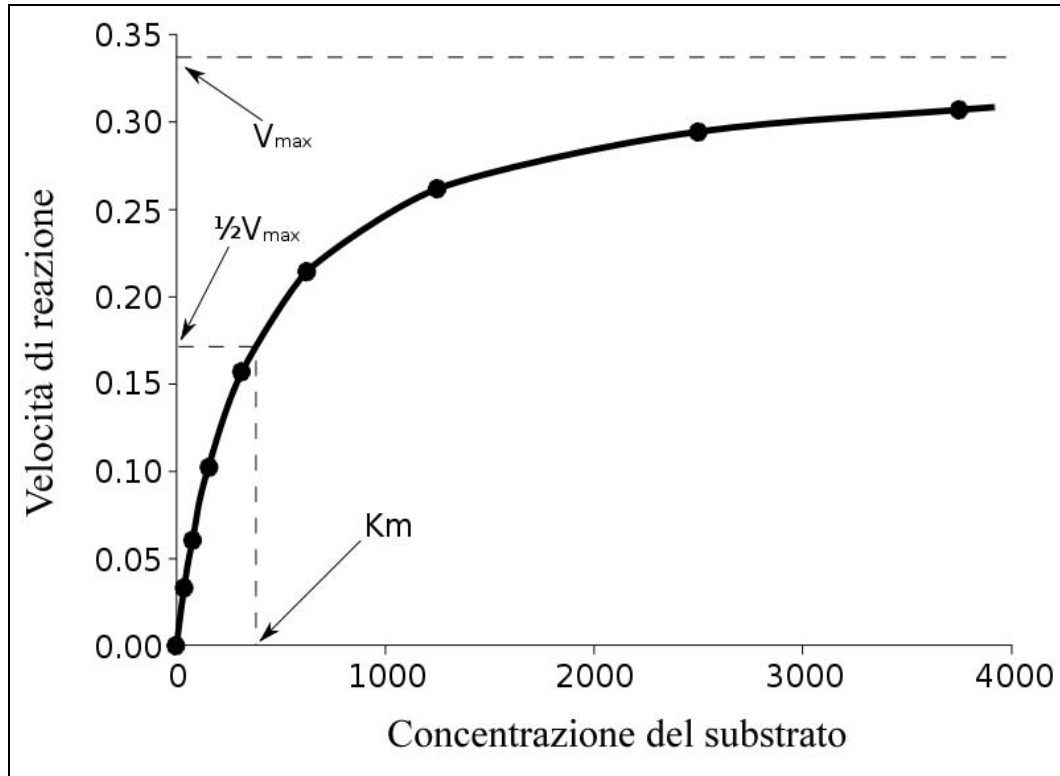
Diversi autori (e.g. Steingrobe and Schenk, 1993; Massa et al., 2008) mostrano che l'equazione di M-M si adatta molto bene per descrivere la relazione tra il tasso di assorbimento di numerosi elementi minerali da parte delle piante e la concentrazione esterna degli stessi. Le proteine trasportatrici di membrana, con un elevato grado di specificità verso un determinato ione, sono perciò assimilati a enzimi fortemente specifici per un determinato substrato. La velocità di reazione è assimilata al flusso di assorbimento dello ione e la concentrazione del substrato a quella dello ione nella zona radicale, perciò l'equazione generale sopra riportata, può essere utilizzata anche per modellizzare l'assorbimento minerale, sostituendo il termine  $I_{max}$  (massimo flusso di nutrienti all'interno della radice) a  $V_{max}$ .



Nel nostro esperimento, per motivi probabilmente imputabili alla variabilità tra piante e al metodo analitico utilizzato per la determinazione della concentrazione di nitrati nella soluzione nutritiva, non è stato possibile costruire per nessuna delle due varietà di lattuga una curva di Michaelis-Menten adeguata. Pertanto, il modello è stato parametrizzato utilizzando il valore medio di  $I_{max}$  ( $I_{max} = 12.04$  mg N/ g DW) comunque determinato nelle due varietà (si è calcolata la media dei valori più alti determinati nelle due varietà, in pratica quelli determinati al primo giorno con la concentrazione di nitrato nella soluzione nutritiva più alta) e usando per  $K_m$  il valore di 0.10 mmoli/L riportato da Seginer et al. (2003).



**Fig. 2.13.** Schema della modellizzazione del contenuto di azoto totale, ridotto (organico + ammoniacale) e nitrico nelle foglie di lattuga coltivata in idroponica. Vedi testo per le abbreviazioni.



**Fig. 2.14.** Modello di Michealis- Menten per una reazione enzimatica:  $V_{max}$ ,  $\frac{1}{2} V_{max}$  e  $K_m$  sono i parametri caratteristici di un determinato enzima.

Le due equazioni utilizzate sono le seguenti. La prima (Eq. 3) descrive la relazione tra  $N_{UPT}$ , espressa nell'unità di tempo e per unità di peso secco (DW), e la concentrazione esterna di N, mentre la seconda (Eq. 4) stima l'assorbimento giornaliero sulla base del DW biomassa secca delle piante giorno per giorno:

$$N_{UPT} = \frac{I_{max} \cdot [NO_3^-]_{EXT}}{K_m + [NO_3^-]_{EXT}} \quad (\text{Eq. 3})$$

$$N_{UPT,i} = DW_i \cdot \left\{ \frac{12.04 \cdot [NO_3^-]_{EXT}}{0.10 + [NO_3^-]_{EXT}} \right\} \quad (\text{Eq. 4})$$

E' stato utilizzato anche un altro approccio, quello di una modellizzazione di tipo empirico-statistico (Modello B). Seguendo questo approccio, si è considerato l'assorbimento di azoto come il risultato del tasso di crescita (*absolute grown rate* o AGR) e di  $[N]_{DW}$ , secondo la seguente equazione (Eq. 5):

$$N_{UPT,i} = AGR_i \cdot [N]_{DW,i} \quad (\text{Eq. 5})$$

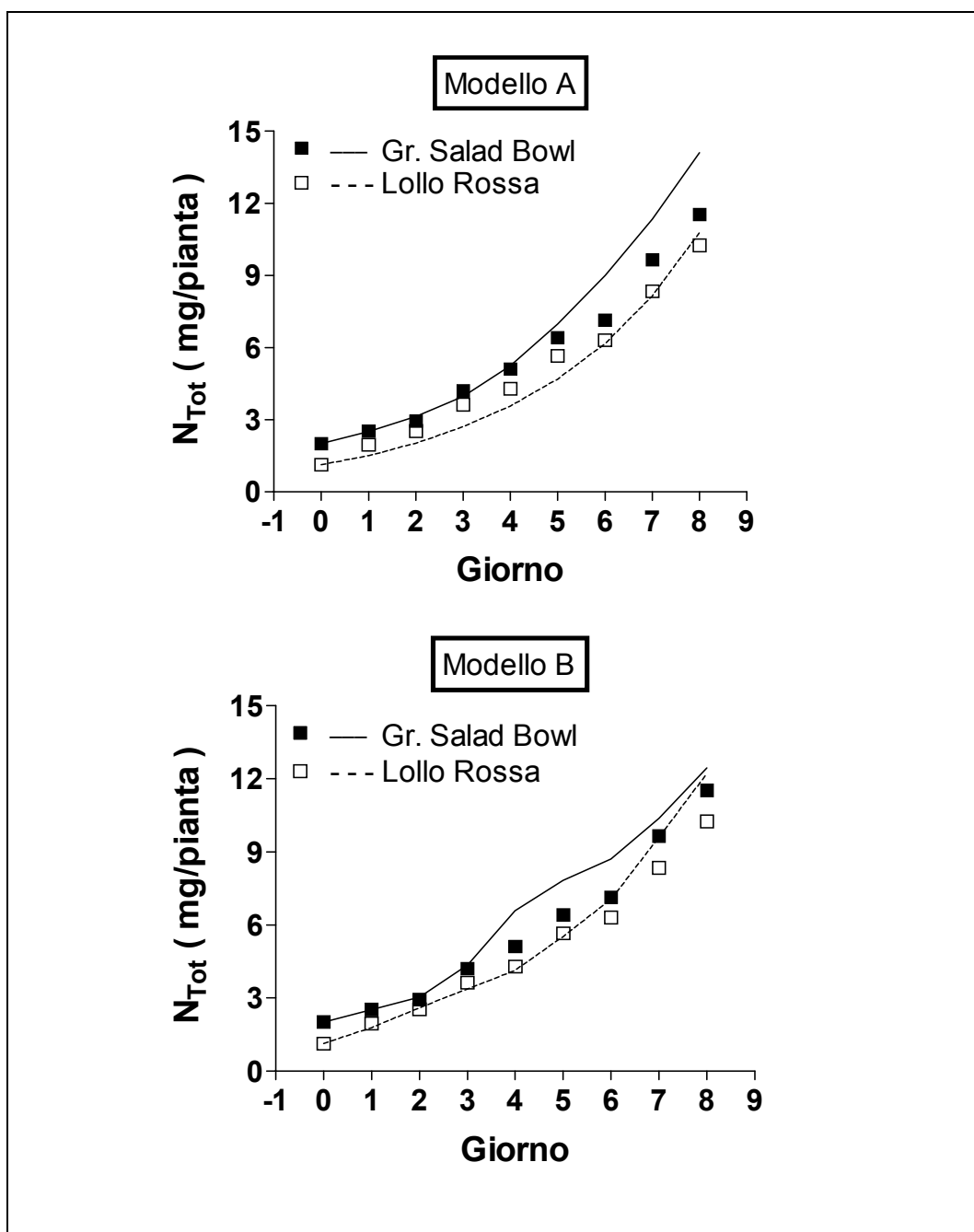
$[N]_{DW}$ , a sua volta, è influenzato sia dalla taglia della pianta ( $DW$ ) che dalla concentrazione esterna di N, come osservato appunto sperimentalmente, e per la sua stima è stato utilizzato un sub-modello, in pratica una regressione multipla con  $DW$  e  $[N_{NO_3}]_{EXT}$  come variabili indipendenti (Eq. 6).

$$\begin{aligned} [N]_{DW,i} &= 6.57 - 93.84 \cdot DW_i - 0.55 \cdot [NO_3^-]_{EXT} \\ R^2 &= 0.62 \end{aligned} \quad (\text{Eq. 6})$$

Il confronto tra i valori sperimentali del contenuto totale di N ( $N_{TOT}$ ) e quelli simulati con i due modelli è riportato nella *Fig. 2.15*.

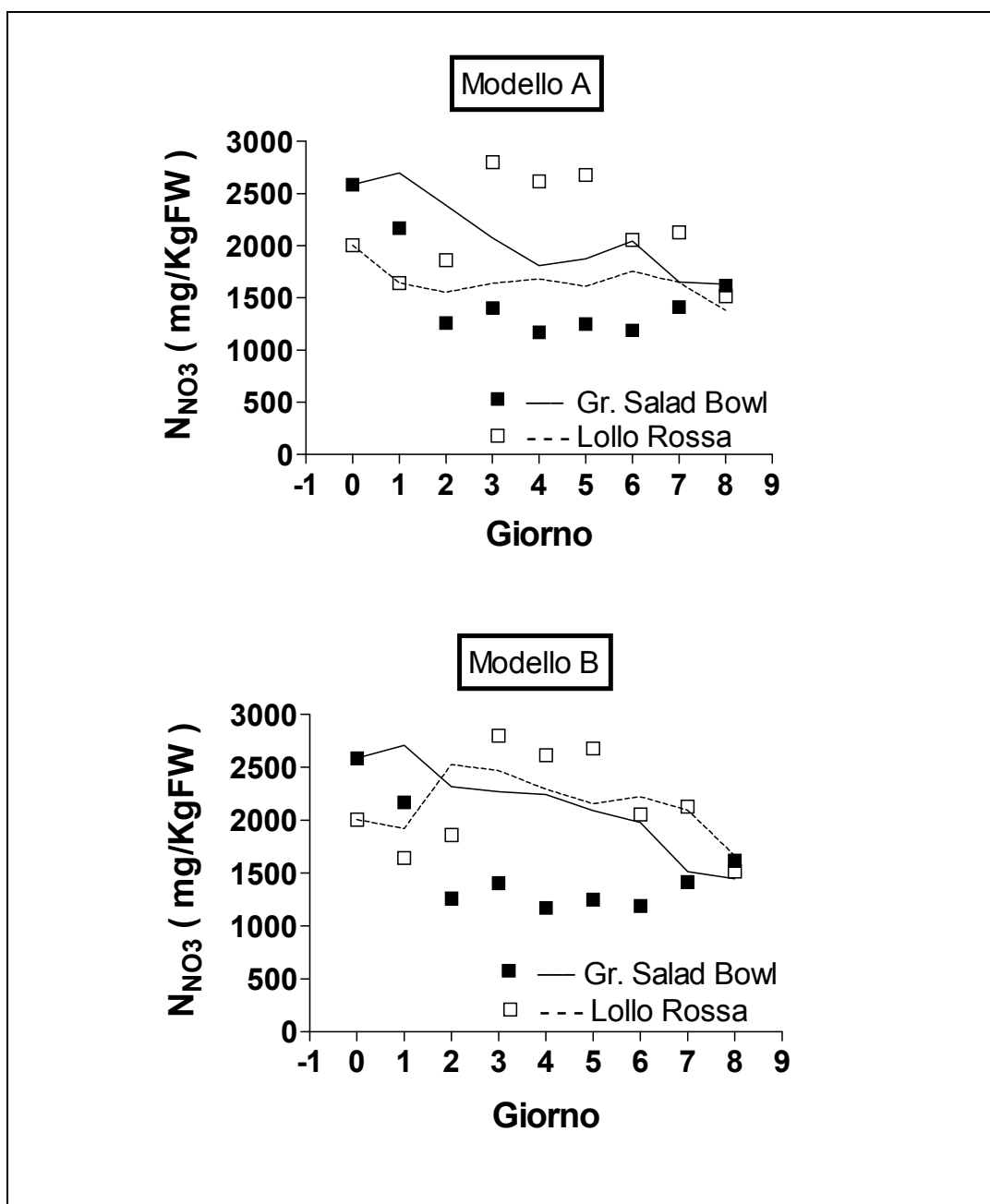
Il risultato della simulazione è simile con i due modelli; l'equazioni della regressione lineare tra i valori previsti (Y) e quelli osservati sperimentalmente (X) sono le seguenti:

- Modello 1:  $Y = 1.21 X - 0.92$  ( $R^2 = 0,96^{***}$ )
- Modello 2:  $Y = 1.17 X - 0.37$  ( $R^2 = 0,98^{***}$ )



**Fig. 2.15** Validazione dei modelli relativi al contenuto di N nelle foglie di lattuga coltivata in idroponica in cella climatica. I quadratini pieni e vuoti rappresentano i valori misurati, mentre le linee intere e tratteggiate rappresentano i valori predetti.

Per quanto riguarda il nitrato, la modellizzazione non ha prodotto gli stessi buoni risultati. D'altra parte, la concentrazione di nitrato nei tessuti fogliari risultava variabile nel corso della prova (Fig. 2.16).



**Fig. 2.16** Validazione dei modelli relativi al contenuto di  $N_{STO}$  nelle foglie di lattuga coltivata in idroponica in cella climatica. I quadratini pieni e vuoti rappresentano i valori misurati, mentre le linee intere e tratteggiate rappresentano i valori predetti.

## 2.4. CONCLUSIONI

Le prove realizzate in questo lavoro sperimentale avevano come obiettivo generale quello di migliorare la comprensione del comportamento della lattuga per quanto riguarda la nutrizione minerale, in particolare quella azotata.

Il primo esperimento mirava ad esaminare la possibilità di ridurre la concentrazione nutritiva in una coltura idroponica di lattuga da taglio, coltivata con la tecnica del *floating system*. L'obiettivo era quello di valutare la possibilità di ridurre sia i rischi di accumulo di nitrati liberi nelle parti eduli, che in colture da foglia da taglio possono raggiungere, a seconda della stagione e della tecnica di coltivazione, concentrazioni anche molto elevate, sia l'impatto ambientale generalmente associato alla lisciviazione di elementi fertilizzanti. Le tecniche idroponiche, infatti, offrono notevoli vantaggi, tra i quali ad esempio il miglioramento delle rese e della qualità del prodotto, e l'allargamento dei possibili areali di coltivazione, ma possono essere responsabili della produzione di reflui delle soluzioni nutritive, talvolta di difficile smaltimento.

I risultati ottenuti, in linea con quelli di riportati da lavori recenti (Parente et al., 2002; Vernieri et al., 2006; Alberici et al., 2008; Cocetta et al. 2008), mostravano come sia possibile ridurre in modo sostanziale la concentrazione degli elementi minerali nelle soluzioni nutritive senza ripercussioni sulla crescita delle piante e sulla qualità del prodotto finale.

Per quasi tutti i parametri qualitativi misurati (contenuto di clorofilla, carotenoidi e fenoli; potere antiossidante), infatti, non sono state osservate differenze tra le tesi che prevedevano l'uso di concentrazioni nutritive pari al 100%, 75% o 50% della concentrazione standard. Inoltre, la riduzione della concentrazione nutritiva riduceva significativamente il contenuto di nitrati.

Sulla base delle osservazioni del diverso comportamento nei confronti dell'azoto delle due *cultivar* impiegate nelle prove del primo esperimento è stato deciso di condurre un secondo esperimento per verificare le basi fisiologiche del diverso accumulo di nitrati liberi osservato nelle due *cultivar* e per modellizzare l'assorbimento di azoto nitrico da parte delle radici e la sua assimilazione

(riduzione). Questo esperimento è stato condotto in cella climatica usando la tecnica della “*nutrient depletion*”. Le diverse condizioni di crescita hanno annullato le differenze tra le due cultivar in termini di accumulo di nitrati, così l’attenzione si è concentrata sul lavoro di modellizzazione.

Oltre ad essere degli strumenti conoscitivi (nel caso, relativamente alla nutrizione azotata della lattuga), i modelli sono utili anche ai fini della gestione pratica della fertilizzazione di una coltura come questa.

Utilizzando dati rinvenuti in bibliografia o raccolti sperimentali nel nostro studio, e seguendo due diversi approcci, sono stati sviluppati due modelli aggregati della variazione del contenuto di azoto ridotto e nitrico nelle foglie di lattuga; i modelli utilizzano come dati di input il tasso di crescita (AGR) della pianta e la concentrazione di azoto nitrico nella soluzione nutritiva. Entrambi i modelli hanno evidenziato una buona capacità di simulare l’accumulo di azoto e la sua assimilazione nelle piante di lattuga.

I risultati ottenuti hanno premesso di chiarire alcuni importanti aspetti riguardanti la nutrizione azotata della lattuga da taglio coltivata in idroponica, tuttavia molti altri restano da analizzare con maggior accuratezza, ed è auspicabile che ciò avvenga vista l’importanza di queste tematiche sia da un punto di vista puramente scientifico che pratico.

## BIBLIOGRAFIA CONSULTATA

1. Alberici, A., Quattrini, E., Penati, M., Martinetti, L., Marino Gallina, P., Ferrante, A., (2008). Effect of the reduction of nutrient solution concentration on leafy vegetables quality grown in floating system. *Acta Hort.*, (in press).
2. Alpi, A., Tognoni, F., (1990). *Coltivazione in serra*. Edizioni Agricole, Bologna.
3. Barba, A.A., Calabretti, A., d'Amore, M., Piccinelli, A.L., Rastrelli, L., (2008). *Phenolic constituents levels in cv. Agria potato under microwave processing*. *Food Science and Technology*, 41: 1919–1926.
4. Bassoli, C., (2003). *IV gamma le idee di Coop Italia*. *Colt. protette*, 6: 35–38.
5. Benton Jones, J., (1997). *Hydroponics. A practical guide for the soilless grower*. St. Lucie Press, Boca Raton, Florida.
6. Benzie, I. F. F., Strain, J. J. (1996). *The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of ‘antioxidant power’: The FRAP assay*. *Analytical Biochemistry*, 239(1): 70–76.
7. Bergquist, S., (2006). *Bioactive Compounds in Baby Spinach (Spinacia oleracea L.). Effect of Pre- and Postharvest Factors*. Doctoral thesis. Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp.
8. Bianco, V.V., Pimpini, F., (1990). *Orticoltura*. Patron Editore, Bologna.
9. Blom-Zandstra M., Lampe, J.M., (1985). *The Role of Nitrate in the Osmoregulation of Lettuce (Lactuca sativa L.) Grown at Different Light Intensities*. *Journal of Experimental Botany*, 36: 1043–1052.
10. Boivin, D., Lamy, S., Lord-Dufour, S., Jackson, J., Beaulieu, E., Côté, M., (2009). *Antiproliferative and antioxidant activities of common vegetables: A comparative study*. *Food Chemistry*, 112: 374–380, in press.



11. Bottex, B., Dorne, J.L., Carlander, D., Benford, D., Przyrembel, H., Heppner, C., Kleiner, J. and Cockburn, A. (2008). *Risk-benefit health assessment of food. Food fortification and nitrate in vegetables*. Trends in Food Science & Technology, 19: S109–S115.
12. Brandt, S., Pék, Z., Barna, E., Lugasi, A., Helyes, L., (2005). Lycopene content and colour of ripening tomatoes as affected by environmental conditions. Journal of the Science of Food and Agriculture, 86: 568-572.
13. Cataldo, D.A., Haroon, M., Schraderle, L.E., Youngs, V.L., (1975). *Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid*. Communication Soil Science and Plant analysis, 6: 71–80.
14. Cocetta, G., Quattrini, E., Schiavi, M., Martinetti, L., Spinardi, A., Ferrante, A., (2008). *Nitrate and sucrose content in spinach leafy vegetable grown in floating system*. Agricoltura Mediterranea, in press.
15. Dalla Rosa, M., Rocculi, P., (2007). *Prodotti di IV gamma, aspetti qualitativi e tecnologici*. Agricoltura, suppl., 34: 33–34.
16. Dapoigny, L., de Tourdonnet, S., Roger-Esrade, J., Jeuffroy, M.H., Fleury, A., (2000). *Effect of nitrogen nutrition on growth and nitrate accumulation in lettuce (Lactuca sativa L.), under various conditions of radiation and temperature*. Agronomie, 20: 843–855.
17. DM 27/08/04, (2004). *Decreto Ministeriale sui residui di prodotti fitosanitari negli alimenti*. Ministero della Salute, Repubblica Italiana.
18. Degl’Innocenti, E., Pardossi, A., Tognoni, F., Guidi, L., (2007). *Physiological basis of sensitivity to enzymatic browning in ‘lettuce’, ‘escarole’ and ‘rocket salad’ when stored as fresh-cut products*. Food Chemistry, 104: 209–215
19. Della Casa, R., (2008). *IV Gamma e freschi pronti a base vegetale: da prodotti di tendenza a punto di riferimento del sistema ortofrutticolo italiano*. Convegno Macfrut Cesena, Cesena, 18 aprile 2008.
20. Donati, V., (2003). *Solo se si mantiene la catena del freddo*. Colture protette,

- 8: 39–43.
21. Du, G., Li, M., Ma, F., Liang, D., (2009). *Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and Vitamin C in Actinidia fruits*. Food Chemistry, 113: 557–562, in press.
  22. Dutta, D., Chaudhuri, U.R., Chakraborty, R., (2005). *Structure, health benefits, antioxidant property and processing and storage of carotenoids*. African Journal of Biotechnology, 4(13): 1510–1520.
  23. EFSA, (2008). *Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on a request from the European Commission to perform a scientific risk assessment on nitrate in vegetables*. The EFSA Journal, 689: 1–79.
  24. Fahey, J.W., Zalcman, A.T., Talalay, P., (2001). *The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants*. Phytochemistry, 56: 5–51
  25. Fanasca, S., Colla, G., Maiani, G., Venneria, E., Rouphael, Y., Azzini, E., Saccardo, F., (2006). *Changes in antioxidant content of tomato fruits in response to cultivar and nutrient solution composition*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54: 4319–4325.
  26. Favilli et al., (1987). *Serre costruzione e impiego*. Supplemento alla rivista Quaderno Agricolo. Torino.
  27. Gericke, W.F., (1937). *Hydroponics: crop production in liquid culture medium*. Science, 85: 177–178.
  28. Hodges, D.M., DeLong, J.M., Forney, C.F., Prange, R.K., (1999). *Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds*. Planta, 207: 604–611.
  29. Ismande, J., Touraine, B., (1994). *N demand and the regulation of nitrate uptake*. Plant Physiol., 105: 1–7.
  30. Istat, (2000). *5° Censimento generale dell'agricoltura*.

31. Jouët, J., (2004). *The situation of plasticulture in the world*. Plasticulture, 123(5): 48–57.
32. Jacxsens, L., Devlieghere, F., Debevere, J., (2002). *Temperature dependence of shelf-life as affected by microbial proliferation and sensory quality of equilibrium modified atmosphere packaged fresh produce*. Postharvest Biology and Technology, 26: 59–73.
33. Kho, K.F.F., Bolsman-Louwen, A.C., Vuik, J.C. and Bennink, G.J.H., (1977). *Anthocyanin synthesis in a white flowering mutant of Petunia hybrida*. Planta, 135: 109-118.
34. La Malfa, G., (1992). *La qualità degli ortaggi di serra*. Colture protette, 20(10): 43–49.
35. Linchtenthaler, H.K., (1987). *Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes*. Met. Enzym., 148: 350-382
36. Lopez-Hernandez, J.C., Pérez-Parra, J., (2006). *Evolution of greenhouse structures*. Plasticulture, 125(7): 9–17.
37. Lotti, G., Galoppini, C., (1980). *Determinazione del contenuto di azoto organico nei tessuti vegetali, metodo KJELDAHL-TECATOR*. Guida alle analisi chimiche agrarie, Edagricole, Bologna.
38. Lunati, F., (2003). *Non solo le insalate per i mix pronti all'uso*. Colture protette, 8: 23–24.
39. Lunati, F., (2007). *Vola la IV gamma, gli ortaggi si sono evoluti*. Agricoltura, 10: 51–53.
40. Malorgio, F., (2004). *Le colture fuori suolo per le produzioni floricole di serra*. In: Pardossi, A., Incrocci, L., Marziale, P., (Ed.). *Uso razionale delle risorse nel florovivaismo: l'acqua*. Quaderno Arsia, 5: 49–58.
41. Martín-Diana, A.B., Rico, D., Barry-Ryan, C., (2008). *Green tea extract as a natural antioxidant to extend the shelf-life of fresh-cut lettuce*. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 9: 593–603.

42. Massa, D., Mattson, N.S., Lieth, H.J., (2008). *Effects of saline root environment (NaCl) on nitrate and potassium uptake kinetics for rose plants: a Michaelis–Menten modelling approach*. Plant Soil, in press.
43. Massantini, R., Salcini, M.C., (2003). *Innovazione nelle tecnologie per la preparazione dei prodotti IV gamma*. Industrie Alimentari, 429: 953–958.
44. Ölmez, H., Akbas, M.Y., (2009). *Optimization of ozone treatment of fresh-cut green leaf lettuce*. Journal of Food Engineering, 90: 487–494, in press.
45. Oms-oliu, G., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O., (2008a). *Edible coatings with antibrowning agents to maintain sensory quality and antioxidant properties of fresh-cut pears*. Postharvest Biology and Technology, 50: 87–94.
46. Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O., (2008b). *Using polysaccharide-based edible coatings to enhance quality and antioxidant properties of fresh-cut melon*. Food Science and Technology, 41: 1862–1870.
47. Parente, A., Serio, F., Santamaria, P., Conversa, G., L'Abbate, P., Bianco, V.V., (2002). *Nitrogen and quanti-qualitative features of lettuce cultivars [Lactuca sativa L. - Apulia]*. Colture protette, 31(12): 28–32.
48. Pimpini, F., Giannini, M., Lazzarin, R., (2005). *Ortaggi da foglia da taglio*. Veneto Agricoltura, Azienda Regionale per i Settori Agricolo, Forestale e Agroalimentare, Legnaro, Padova.
49. Porrini, M., Riso, P., (2008). *Factors influencing the bioavailability of antioxidants in foods: A critical appraisal*. Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases, 18: 647–650.
50. Porto, M.L., Alves, J.C., Souza, A.P., Araujo, R.C., Arruda, J.A., (2008). *Nitrate production and accumulation in lettuce as affected by mineral Nitrogen supply and organic fertilization*. Horticultura Brasileira, 26: 227–230.
51. Randazzo, C.L., Pitino, I., Scifò, G.O., Caggia, C., (2008). *Biopreservation of minimally processed iceberg lettuces using a bacteriocin produced by*

- Lactococcus lactis wild strain*. Food Control, in press.
52. Raviv, M., Lieth, H., (2008). *Soilless Culture: Theory and Practice*. Elsevier.
53. Reg. [CE] n. 1831/2003 (2003). *Regolamento della Commissione Europea che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari*. Commissione della Comunità Europea.
54. Rosito, V., (2004). *La produzione e la commercializzazione dei prodotti ortofrutticoli di quarta gamma nel sistema agroalimentare*. Tesi di Master in “Manager dei processi di approvvigionamento e distribuzione dei prodotti agro-alimentari”. Università di Bari, Dipartimento per lo studio delle società mediterranee, Sezione di economia e politica agraria.
55. Samara, A., Koutsoumanis, K.P., (2008). *Effect of treating lettuce surfaces with acidulants on the viability of Listeria monocytogenes during storage at 5 and 20 °C and subsequent exposure to simulated gastric fluid*. International Journal of Food Microbiology, in press.
56. Santamaria, P., Valenzano, V., (2001). *La qualità degli ortaggi allevati senza suolo*. Italus Hortus, 8(6): 31–38.
57. Santamaria, P., Valenzano, V., (2002). *Livelli di nitrato e commercializzazione degli ortaggi*. Colture protette, 31(12): 7–13
58. Seginer, I, (2003). *A Dynamic Model for Nitrogen-stressed lettuce*. Annal of Botany, 91: 623–635.
59. Sportelli, G.F., (2003). *Meglio il floating System così si limitano i costi e il prodotto è più pulito, ideale per la quarta gamma*. Terra e vita, 6: 62–64.
60. Steingrobe, B., Schenk, M.K., (1993). *Simulation of the maximum nitrate inflow (Imax) of lettuce (Lactuca sativa L.) grown under fluctuating climatic conditions in the greenhouse*. Plant and Soil 155/156: 163–166.
61. Tognoni, F., Incrocci, L. (2003). *Le colture fuori suolo: situazione in Italia e prospettive per il futuro*. Informatore Fitopatologico, 2: 27–12.
62. Tognoni, F., Malorgio, F., Incrocci, L., Carmassi, G., Massa, D., Pardossi, A.,

- (2005). *Tecniche idroponiche per colture in serra, strategie per il miglioramento dell'orticoltura protetta in Sicilia*. Scoglitti (RG), 1: 39–51.
63. van Os, E.A., Stanghellini, C., (2001). *Diffusion and environmental aspects of soilless growing system*. Italus Hortus, 8 (6): 9–15.
64. Velázquez, L.d.C, Barbini, N.B., Escudero, M.E., Estrada, C.L., Stefanini de Guzmán A.M., (2008). *Evaluation of chlorine, benzalkonium chloride and lactic acid as sanitizers for reducing Escherichia coli O157:H7 and Yersinia enterocolitica on fresh vegetables*. Food Control, 20: 262–268.
65. Vernieri, P., Borghesi, E., Tognoni, F., Serra, G., Ferrante, A., Piaggese, A., (2006). *Use of biostimulants for reducing nutrient solution concentration in floating system*. Acta Hort., 718: 477-484.
66. Volden, J., Borge, G.I., Hansen, M., Wicklund, T., Bengtsson, G.B., (2009). *Processing (blanching, boiling, steaming) effects on the content of glucosinolates and antioxidant-related parameters in cauliflower (Brassica oleracea L. ssp. botrytis)*. Food Science and Technology, 42: 63–73, in press.
67. Wang, Q.B., Chen, J.J., Stamps, R.H., Li, Y.C., (2005). *Correlation of Visual Quality Grading and SPAD Reading of Green-Leaved Foliage Plants*. Journal of Plant Nutrition, 28(7): 1215–1225.
68. Watada, A.E., Ko, N.P., Minott, D.A., (1996). *Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products*. Postharvest Biology and Technology, 9: 115–125.

**Risorse bibliografiche in Internet:**

- <http://epp.eurostat.ec.europa.eu>
- <http://faostat.fao.org>

## RIASSUNTO

Le richieste del consumatore moderno sono notevolmente cambiate rispetto al passato. Esiste un *trend* a livello mondiale, che consiste in una crescente ricerca da parte dei consumatori di cibi sani, liberi da residui tossici e contemporaneamente prodotti nel rispetto dell'ambiente (*environmentally friendly*). Una delle sfide principali dell'orticoltura globale del futuro è rispondere a queste esigenze, cercando di farlo anche in paesi meno sviluppati dove il problema della malnutrizione è ancora più che mai attuale. Per quanto riguarda gli ortaggi, la produzione con tecniche innovative, come i sistemi idroponici a ciclo chiuso, potrebbe essere la risposta più adatta a questo fine. Sistemi *soilless low-cost* potrebbero rappresentare parte della soluzione ai problemi legati alla mancanza di suolo fertile e di acqua, che sempre più spesso sono presenti anche nelle nostre aree. Ristrette aree coltivate potrebbero garantire quantità di cibo notevolmente superiore rispetto alle tecniche tradizionali e di elevata qualità. Il cambiamento dello stile di vita, specialmente nelle aree maggiormente attive dal punto di vista economico, ha certamente modificato anche i modelli di consumo. Per questo la richiesta di prodotti caratterizzati da elevata praticità, pronti all'uso, si è notevolmente incrementata. In questo nuovo contesto i prodotti minimamente trattati, stanno attirando l'attenzione di produttori e consumatori in maniera crescente. La qualità nutraceutica degli ortaggi è poi sicuramente un altro aspetto di grande rilevanza, a cui il consumatore punta con maggiore sempre attenzione. Produttori e trasformatori devono perciò lavorare a stretto contatto e adottare le tecniche più adatte, al fine di ottenere cibi ricchi di composti utili e preservarli durante tutti i processi di lavorazione e conservazione.

Viste queste premesse è stato impostato un lavoro sperimentale, svolto in due fasi, al fine di fare luce su alcuni aspetti legati alla nutrizione azotata di lattuga da taglio (*Lactuca sativa* L.), adatta quindi al mercato della IV gamma, coltivata con la tecnica del *floating system*. La prima fase ha avuto come obbiettivo quello di valutare gli effetti della riduzione dell'apporto di azoto sulla quantità e qualità della produzione, incentrando l'attenzione sulla concentrazione dei nitrati e le

proprietà antiossidanti della stessa. I risultati ottenuti dimostrano che è possibile ridurre il contenuto di nitrati nel prodotto, limitando l'apporto dell'elemento minerale, senza incidere sulle altre *performance* produttive, sia da un punto di vista quantitativo che qualitativo. La seconda fase invece si è incentrata sulle dinamiche di assorbimento e assimilazione dell'azoto, ed aveva come obiettivo quello di valutare la possibilità di descrivere l'assorbimento con una cinetica di tipo Michaelis-Menten. Non è stato possibile costruire una cinetica dell'assorbimento, ma è stato però possibile individuare le cause che ne hanno impedito la realizzazione e trarre altre interessanti conclusioni sulle dinamiche di assorbimento-assimilazione di questo elemento.